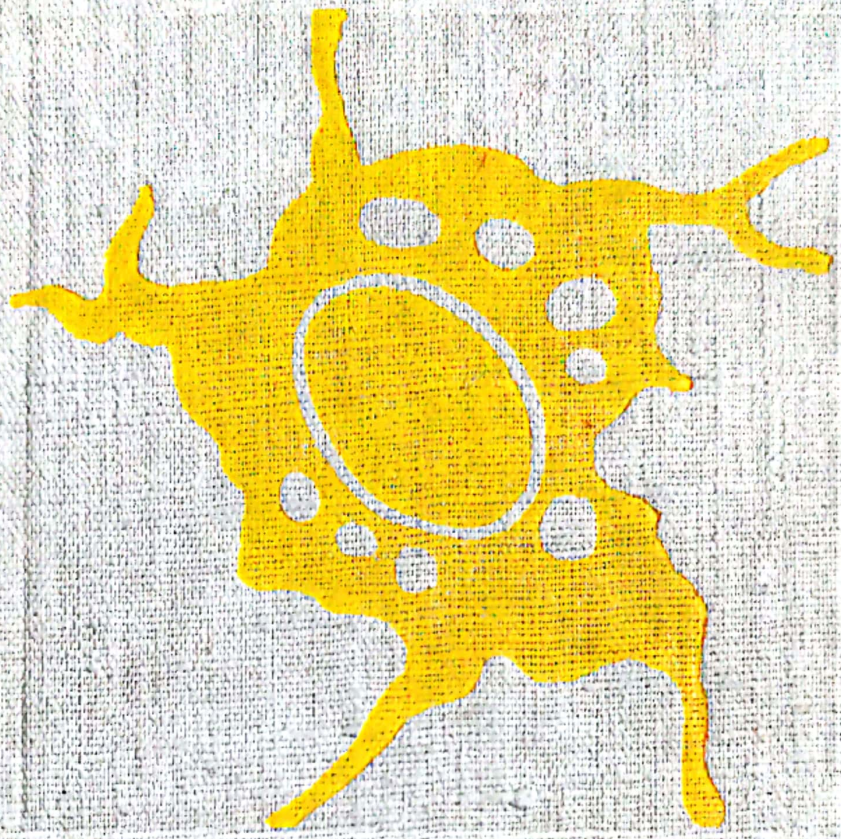
I. DICULESCU D. ONICESCU C. RIMNICEANU



HISTOLOGIE

Scanned with OKEN Scanner

61
D 447

MINISTERUL ÎNVĂȚĂMÎNTULUI

I. DICULESCU ● D. ONICESCU ● C. RÎMNICEANU

Bibl. ... Târgu-Mureș

HISTOLOGIE

(CITOLOGIE ȘI HISTOLOGIE GENERALĂ)

VOL. I.

EDITURA DIDACTICĂ ȘI PEDAGOGICĂ – BUCUREȘTI, 1970

335.739

Scanned with OKEN Scanner

CUVÎNT ÎNAINTE

Lucrarea de faţă cuprinde două din cele trei părţi ale cursului de histologie, şi anume, citologia şi histologia generală. Capitolul introductiv şi citologia au fost redactate de prof. dr. I. Diculescu; ţesutul epitelial, sîngele şi ţesutul nervos au fost redactate de prof. dr. C. Rîmniceanu, ţesutul conjunctiv, ţesutul cartilaginos, ţesutul osos şi ţesuturile musculare au fost redactate de dr. Doina Onicescu. În elaborarea diferitelor capitole am utilizat larg materialul ştiinţific şi didactic acumulat la catedrele de histologie de la I.M.F — Bucureşti şi I.M. — Timişoara; în acest sens, lucrarea este rodul experienţei întregului colectiv al catedrelor respective. Remarcăm în mod deosebit sprijinul material şi tehnic pe care ni l-au dat dr. L. Mischiu, dr. Cl. Casian, dr. I. Stoica, dr. A. Marin, dr. C. Dragomir şi dr. N. Ionescu, cărora le adresăm pe această cale mulţumirile noastre.

AUTORII

Scanned with OKEN Scanner

CUPRINS

Introducere 9

PARTEA ÎNTÎI
CELULA

Bazele moleculare ale organizării structurilor şi ultrastructurilor celulare 14
Caractere morfologice generale ale celulelor 14
Membrana celulară 44
Nucleul 59
- Organizarea generală 59
- Membrana nucleară 68
- Nucleolul 73
- Carioplasma 80
- Cromatina sexuală 85
- Incluziunile nucleare 87
- Cromozomii 88
- Funcţiile nucleului 96

Citoplasma 102
- Matricea citoplasmatică 103
- Ribozomii 104
- Sistemul vacuolar citoplasmatic 113
- Bazele celulare ale mişcării. Centrul celular, cilii, flagelii şi miofibrilele. Cicloza şi mişcarea amiboidală 126
- Mitocondriile 135
- Organitele fotorecepţiei 152
- Lizozomii 155

Diviziunea celulară 163
- Mitoza 163
- Amitoza 175
- Meioza 177

Creşterea, diferenţierea, îmbătrînirea şi moartea celulei 183

Scanned with OKEN Scanner

PARTEA A DOUA
HISTOLOGIE GENERALĂ

Țesutul epitelial 188
Epiteliul de înveliș 189
Epiteliul glandular 200
Țesuturile conjunctive 205
Generalități 205
Celulele conjunctive 206
Substanța fundamentală 223
Fibrele conjunctive 227
Membranele bazale 232
Capilarele vasculare 233
Varietăți de țesuturi conjunctive 240
Țesutul cartilaginos 251
Țesutul osos 257
Sîngele 270
Generalități 270
Plasma sanguină 272
Elementele figurate ale sîngelui 275
Hemopoeza. Sistemul hemopoetic 298
Țesuturile musculare 301
Generalități 301
Țesutul muscular neted 302
Țesutul muscular striat 308
Țesutul muscular cardiac — miocardul 319
Țesutul nervos 327
Generalități 327
Neuronul 328
Fibrele nervoase 333
Terminațiile nervoase 339
Degenerescența și regenerarea fibrelor nervoase 342
Nevrogliile 345

Scanned with OKEN Scanner

INTRODUCERE

Histologia (de la cuvintele greceşti *histos*=ţesut şi *logos*=vorbire) este ştiinţa care se ocupă cu studiul organizării microscopice (invizibile cu ochiul liber) a organismelor vieţuitoare, şi deci şi a omului. Ea cuprinde trei părţi: citologia sau biologia celulară, histologia generală sau biologia diferitelor tipuri de ţesuturi ce intră în alcătuirea corpului omenesc şi histologia specială.

Din definiţia de mai sus se poate deduce că apariţia, afirmarea şi dezvoltarea histologiei ca ştiinţă (ca ramură a ştiinţelor biologice fundamentale) este strîns împletită cu dezvoltarea tehnologiei instrumentelor măritoare, a microscoapelor, precum şi a metodelor de prelucrare a materiei vii pentru a fi adecvată examinării.

Primele observaţii privitoare la organizarea microscopică a lumii vii le datorăm fizicianului englez R. Hooke care semnalează (1665) prezenţa unor cămăruţe microscopice (celule) în textura plutei. Biologul italian M. Malpighi (1675) precizează că vegetalele sînt compuse din formaţiuni microscopice despărţite prin pereţi membranoşi pe care el le denumeşte utricule sau sacule. Olandezul A. Leeuwenhock descrie celule libere ca infuzorii, spermatozoizii, globulele sanguine etc.

La sfîrşitul secolului al XVIII-lea şi începutul secolului al XIX-lea s-au acumulat numeroase date şi observaţii privind structura microscopică a lumii vii. În această perioadă, o pleiadă de cercetători, printre care citäm pe Wolf, Mirbel, Dutrochet, Brown, Purkinje, Ber, Goreaninov, au extins şi detaliat observaţiile privitoare la formaţiunile microscopice aflate în compunerea lumii vii.

Ca ştiinţă aparte, histologia nu se afirmă însă decît la mijlocul secolului trecut, după ce Schleiden (1838) şi Schwann (1839) fac generalizarea teoretică, de o excepţională importanţă pentru dezvoltarea tuturor ştiinţelor, cu privire la organizarea celulară a întregii lumii vii formulînd teoria celulară.

În cea de-a doua jumătate a secolului al XIX-lea şi primele decenii ale secolului nostru, histologia cunoaşte o dezvoltare foarte rapidă, devenind o entitate majoră în grupul ştiinţelor morfologice, şi anume ştiinţa structurilor microscopice. Aceasta se realizează pe baza tehnologiei microscopului fotonic. Totodată, histologia constituie punctul de plecare pentru numeroase tehnici ajutătoare utilizate în practica medicală. Histologia ajunge la etapa sa cla-

Scanned with OKEN Scanner

sică de ştiinţă a structurilor microscopice prin contribuţiile a numeroşi savanţi de renume mondial, prin care Virchow, Kölliker, Ramon Y Cajal, C. Golgi, Mecinikov, Doghiel, Nassonov, Zawarzin, A. Prenant, Bouin, G. Marinescu, V. Babeş, I. Athanasiu, D. Voinov, M. Schultze, Leydig, A. A. Maximov. Datorită lor au fost epuizate principalele domenii de studiu structural la care microscopul fotonic dădea acces.

În perioada respectivă şi în ţara noastră, histologia cunoaşte o dezvoltare prestigioasă. Încă din anul 1879 ia fiinţă o catedră de Histologie la Facultatea de medicină din Bucureşti, studiul acestei discipline încorporîndu-se organizat învăţămîntului superior medico-biologic românesc. Profesorii Petrini—Galaţi, A. Obreja, I. Bruckner, St. Benea, I. Niculescu conduc succesiv catedra apărută în 1879.

Personalităţi puternice care au antrenat cercetarea histologică din România pe linii ferme au fost G. Marinescu (fondatorul neurohistologiei româneşti) la Facultatea de medicină şi D. Voinov (creatorul unei şcoli naţionale de citologie) la Facultatea de ştiinţe naturale din Bucureşti. Histofiziologia s-a afirmat prin Prof. Atanasiu şi Drăgoi.

O mare distanţă separă totuşi histologia epocii pe care am putea-o denumi clasică — cu toată impresionanta sa dezvoltare — de histologia actuală. Disciplina care era în fond domeniul de studii microscopice al anatomiei, trebuie acum privită ca biologia celulelor, ţesuturilor şi componentelor lor. Ea are posibilitatea, datorită volumului mare de date de cercetare ce s-au acumulat, să trateze structurile în conexiune cu funcţiile lor, cu evoluţia şi sensul lor adaptiv.

Cum s-a ajuns la această situaţie? În toată prima jumătate a secolului al XX-lea ca şi apoi, posibilităţile tehnice ale cercetării biologice au crescut imens. Razele X, descoperite de W. K. Roentgen au fost folosite de Max von Laue pentru elaborarea unei tehnici (difracţia razelor X) care s-a dovedit extrem de fructuoasă în investigaţiile privind macromoleculele şi structurile celulare sau tisulare ordonate. F. Soddy, F. W. Aston şi G. von Hevesy au fundamentat chimia izotopilor, indispensabilă astăzi studiului metabolismelor. F. Pregl a pus la punct metodele de microanaliză. T. Svedberg a elaborat şi dezvoltat tehnicile de ultracetrifugare, esenţiale pentru cunoaşterea organitelor celulare şi a macromoleculelor. Feulgen, J. Verne, J. Brachet, G. Gömöri, A. Seligman şi A. G. E. Pearse au fondat histochimia şi histoenzimologia modernă. T. O. Caspersson a pus bazele şi a dezvoltat citochimia cantitativă. F. Zernike a inventat microscopul cu contrast de fază care permite examinarea celulelor şi a ţesuturilor vii. Consecutiv precizării principiilor opticii electronice de către H. Busch, la începutul deceniului al IV-lea a fost inventat microscopul electronic, iar românul G. Palade, punînd bazele utilizării lui în biologie, a deschis larg cîmpul investigării lumii ultrastructurilor. A. Carrel a pus bazele metodelor de cultivare in vitro a celulelor. Cromatografia, polarografia, electroforeza, tehnicile histoenzimologice au venit să completeze acest vast arsenal.

Valoarea variatelor elemente de progres menţionate este reliefată între altele de faptul că unii din cercetătorii ale căror nume se află citate mai sus au fost distinşi cu Premiul Nobel.

Scanned with OKEN Scanner

Efectele în domeniul cercetării celulare ale exploziei tehnologice moderne s-au manifestat prompt. Penetrarea în intimitatea alcătuirii organismelor doar prin uzul microscopului fotonic obişnuit sau a procedurilor de chimie analitică limita extrem scara dimensiunilor spaţiale ale structurilor expuse investigaţiei. În plus, practica lor impunea două tipuri de disjuncţii în cadrul fenomenului vital complex. Prima afecta cea mai importantă variabilă a oricărui proces natural, şi anume timpul — tehnicile secolului trecut efectuau adevărate secţiuni în timp, fie că era vorba de investigaţia microscopică sau de analiza biochimică. Cea de-a doua crea pe seama procesului biologic unitar o dualitate structură-funcţie din care cu greu se putea reconstitui realitatea. Faptul avea la bază incapacitatea metodelor de studiu funcţional — fiziologice sau biochimice — de a se raporta la altceva decît organele în ansamblu sau volumele mari de ţesut.

Descoperirile şi inovaţiile tehnice înainte menţionate au modificat radical situaţia cercetării. Microscopia electronică şi folosirea razelor X au făcut să se poată acoperi întregul spectru dimensional al structurilor întîlnite în organisme. Microscopia cu contrast de fază şi perfecţionarea metodelor de cultivare a celulelor in vitro au permis urmărirea continuă, în timp, a proceselor biologice Microanaliza, ultracentrifugarea, chimia izotopilor, histochimia şi histoenzimologia au deschis calea studiului funcţiei la nivelul oricărei structuri. Citochimia cantitativă, cromatografia, electroforeza etc. au generat posibilitatea obţinerii unor date cantitative exacte asupra structurilor sau macromoleculelor.

Toate acestea au condus către situaţia concretizată în noua definiţie a histologiei, aceea care o echivalează cu biologia ţesuturilor şi celulelor, situaţie care face ca orice stare sau proces tisular, celular sau subcelular să primească pentru a fi descifrat o tratare globală. Evident, momentul actual al histologiei nu înseamnă nici pe departe epuizarea problematicii, ci doar o nouă capacitate în punerea problemelor şi în rezolvarea lor. Alături de tehnologie, este în formare o metodologie integrativă biologică, a cercetării celulei.

Evoluţia tratărilor teoretice în ştiinţă a contribuit de asemenea la dezvoltarea modului de abordare a fenomenelor celulare. Sub aspectul importanţei pentru acest domeniu merită a fi citate teoriile comportamentului coloizilor, mecanica cuantică, termodinamica (îndeosebi cea a proceselor ireversibile), teoriile fenomenelor superficiale, electrochimia. Structurile pot fi tratate sub aspect funcţional, dar analiza modernă nu este limitată doar la citofiziologie. Condiţionările fizice şi chimice ale oricăror stări şi procese pot fi abordate şi interpretate.

Noţiunea de structură este utilizată în biologie într-un sens cuprinzător; gradul complexităţii sale reprezintă un parametru intensiv de caracterizare a organismelor sau părţilor componente. Astfel zis, avem în vedere o calitate care, cel puţin în anumite limite, nu se raportează la dimensiuni spaţiale. La metazoarele superioare distingem o întreagă serie de nivele structurale: organizarea tisulară, celulară, subcelulară, moleculară şi, pe treapta situată la bază, organizarea atomilor în molecule. Dintre acestea nivelele tisular, celular şi subcelular sînt rezervate studiului histologic. Fiecare nivel prezintă proprietăţi, calităţi,

Scanned with OKEN Scanner

conţine posibilităţi de reacţie distincte însă, în egală măsură, fiecare se constituie pe seama proprietăţilor elementelor alcătuitoare întîlnite în nivelele inferioare.

A înţelege cît mai cuprinzător un obiect şi fenomenul în care acest obiect se manifestă, înseamnă a surprinde, în toată complexitatea lor, relaţiile dintre legile care guvernează mişcarea la diferite nivele de organizare structurală. Pentru a obţine o imagine satisfăcătoare a corpului uman viu trebuie să fie cunoscute principiile de funcţionare ale organelor şi sistemelor de organe, modul în care acestea se reflectă în alcătuirea tisulară şi mai departe raporturile dintre comportarea ţesuturilor şi cea a celulelor, a acestora din urmă şi a macro- sau micromoleculelor.

În procesul de cunoaştere a lumii vii se urmăreşte atît descifrarea planului de alcătuire a diferitelor ei trepte de organizare (de la moleculele proteice relativ simple pînă la organele şi aparatele cele mai compleve), cît şi aprofundarea biologiei structurilor şi ultrastructurilor care intră în componenţa vieţuitoarelor. O asemenea ghidare a interesului atît în cercetarea cît şi în învăţămîntul medico-biologic stă pe baza unui fapt real de extremă importantă. Diversificarea şi însăşi evoluţia lumii vii înseamnă — în aspectul lor cel mai frapant — o creştere a complexităţii organizării fiinţelor, o dată cu realizarea unui grad corespunzător de adaptare la condiţiile impuse de mediu.

Viaţa este posibilă numai atunci cînd toate elementele componente ale unui organism (de la cele vizibile direct cu ochiul liber la cele observabile numai la microscopul fotonic sau abia la microscopul electronic) intră în anumite relaţii ce pot fi redate sub forma unor legi specifice, cînd din aceste relaţii se dezvoltă spaţial polarităţi care asigură o desfăşurare corectă a funcţiunilor, cînd proporţiile dintre elementele structurale componente sînt corespunzătoare necesităţilor.

Pentru a da un exemplu asupra importanţei menţinerii unei ordini severe la nivelul tuturor treptelor de organizare a materiei vii, se poate aminti că într-un singur gram de ţesut muscular se află circa 200 bilioane de molecule de miozină şi 400 bilioane molecule de actină, dispuse în totalitate în relaţii extrem de caracteristice şi riguroase, şi că nu poate avea loc contracţia musculară decît dacă între aceste molecule se stabilesc anumite interacţiuni.

Ordinea în lumea vie nu se limitează la conexiuni simple similare celor din lumea minerală. Un cristal mineral poate atinge dimensiuni foarte mari şi totuşi structura sa este reductibilă la o schemă geometrică de loc amplă sau complicată. Faţă de un asemenea cristal, fie el şi de cîteva tone, o insectă minusculă prezintă un grad de complexitate structurală practic infinit superior. Ordinea interioară a fiinţelor vii nu poate fi circumscrisă geometric, ea se naşte prin cuplări complexe, reversibile, a unor nivele de organizare uimitor de diferite. O notaţie se cere însă. Înţelegerea organismelor ca edificii compuse dintr-o serie de nivele de organizare nu trebuie făcută cu lipsă de grijă. Diversitatea lumii vii este extremă. Fiecare dintre nivelele identificate la un moment dat poate apărea, în funcţie de noi criterii, ca format din multe alte subnivele sau ca fiind numai o parte componentă a unui nivel superior mai cuprinzător.

Iată de ce datorită noilor situaţii tehnologice şi teoretice *histologia* din domeniul organizării invizibile cu ochiul liber a lumii vii (deci şi a omului), devine, cum s-a mai spus, *ştiinţa biologiei structurilor microscopice şi ultramicroscopice.*

Scanned with OKEN Scanner

PARTEA ÎNTÎI

CELULA

Scanned with OKEN Scanner

BAZELE MOLECULARE ALE ORGANIZĂRII STRUCTURILOR ȘI ULTRASTRUCTURILOR CELULARE

Scanned with OKEN Scanner

Un punct nodal în studierea complexelor fenomenelor vitale îl reprezintă descifrarea bazelor moleculare ale alcătuirii organismelor celulare. Aceste constituie un nivel al organizării lumii vii care condiţionează proprietăţile celorlalte nivele superioare, de exemplu, cel al structurilor sau ultrastructurilor celulare sau ale ţesuturilor. Legile fizice şi chimice îşi găsesc în procesele moleculare o expresie imediată. Biologia structurilor şi a ultrastructurilor beneficiază într-o măsură tot mai mare de achiziţiile moderne referitoare la anatomia moleculelor organice care intră în compoziţia materiei vii. Iată de ce va fi necesar înainte de toate a se preciza care sînt particularităţile constituenţilor nivelului molecular de organizare a substanţei vii ce permit etajarea ulterioară a altor nivele de mare complexitate.

RELAŢIA STRUCTURĂ CELULARĂ – CONSTITUŢIE MOLECULARĂ

Dimensiunile întîlnite în domeniul structurilor celulare sau în cel molecular se exprimă în unităţi de lungime corespunzătoare care sînt:

— micronul — 1 micron=1/1 000 mm;
— milimicronul — 1 milimicron=1/1 000 microni=1/1 000 000 mm;
— Ångstromul — 1 Å=1/10 milimicroni=1/10 000 000 mm.

Distribuţia unor elemente caracteristice organismelor, studiate de histologie, în scara acestor unităţi poate fi sesizată în figura 1. Este util a se preciza accesul diferitelor instrumente folosite în cercetare pentru exprimarea structurilor cu dimensiuni de ordinul de mărime indicat de unităţile de mai sus.

Este cunoscută relaţia: $y=\frac{1{,}22\,\lambda}{2n\,\sin\,u}$, în care y este puterea de rezoluţie a microscopului, λ — lungimea de undă a radiaţiei utilizată în examinare, u — deschiderea obiectivului şi n — indicele de refracţie al mediului aflat între obiectiv şi obiect. Cu ajutorul microscopului fotonic au putut fi descrise *structurile celulare*, ca nucleul, cromozomii, mitocondriile, zona Golgi, miofibrilele, neurofibrilele, incluziunile celulare etc. Datele furnizate de microscopul fotonic erau însă prea grosiere pentru a putea pătrunde în înţelegerea intimităţii proceselor biologice care stăteau la baza structurilor respective. Aceasta a fost etapa aşa-numitei *citologii descriptive*. Una dintre cele mai importante probleme ale histologiei a fost aceea de a dispune de aparate măritoare pentru care variabila y din expresia de mai sus să poată avea valori cît mai mici. În cazul

Scanned with OKEN Scanner

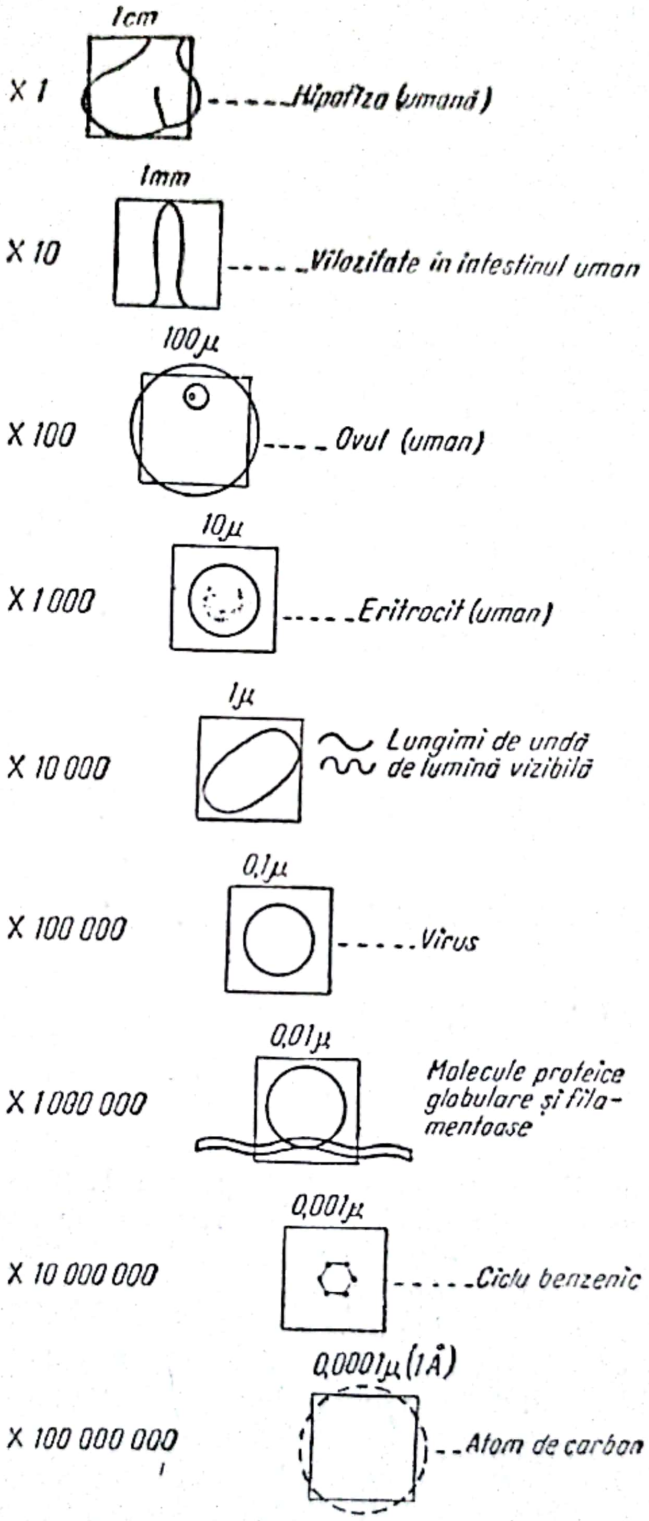


Fig. 1. Spectrul de dimensiuni al structurilor şi componentelor moleculare întîlnite în organisme.

Scanned with OKEN Scanner

păstrării unei anumite valori a lui λ, y nu poate deveni însă oricît de mic, deoarece sin u este totdeauna subunitar ($u<90°$), iar n nu poate depăşi cu mult 1,5. Drept consecinţă la microscopul fotonic (utilizînd radiaţii cu λ aproximativ între 7 000 şi 4 000 Å) nu au putut fi distinse detalii de structură mai mici de 0,2 microni. Moleculele cele mai mari chiar dacă pe o dimensiune intră eventual în acest domeniu (şi aceasta în rare cazuri), ele nu pot fi nici pe departe observate la microscopul fotonic, fiindcă grosimea lor se situează mult sub puterea rezolutivă — nu depăşeşte cîteva zeci de Å. Microscopul electronic, în schimb, realizează teoretic puteri de rezoluţie de circa 2,5 Å — deci la nivelul mărimilor ionilor alcalini. Marea putere de rezoluţie a microscoapelor electronice se datorează faptului că electronii accelerați utilizaţi în formarea imaginii corespund unei radiaţii ondulatorii cu o lungime de undă sub 0,1 Å. Ea nu poate fi folosită integral în cercetarea histologică dat fiind că secţiunile ce se examinează, executate la ultramicrotom, sînt încă suficient de groase ca prin suprapunere de planuri să facă de nediscernut detaliile cu mărimi la nivelul puterii de rezoluţie. Structuri de zeci de Å sînt însă observabile curent. Cu ajutorul microscopului electronic au putut fi descoperite şi cercetate structuri *subcelulare* sau *ultrastructurile*, ca ribozomii (cu diametre de circa 150 Å), citomembranele trilaminate (la care grosimea fiecărui strat se situează în jur de 20 Å), corpusculi elementari mitocondriali (în compunerea cărora intră piese cu dimensiuni sub 40 Å), structuri filamentoase în nuclei sau citoplasmă avînd grosimi în jur de 20 Å. Toate acestea au apărut asociate între ele într-o mare varietate de aspecte. La scara de mărimi arătate mai sus (uneori sub acestea dar nu cu mult) se plasează macromoleculele biologice, aşa cum au fost ele măsurate printr-o serie de alte căi (difracţia razelor X, difuzia luminii, sedimentarea în ultracentrifugă) sau chiar, în condiţii speciale, la microscopul electronic. Dacă moleculele mari nu sînt vizibile direct în ultrasecţiuni, faptul se datorează şi multiplelor lor interconexiuni a căror bază de organizare va fi discutată ulterior. Aşadar, nivelul ultrastructural de organizare a materiei vii se plasează în imediată tangenţă cu cel molecular şi chiar se suprapune acestuia în parte. În studiul histologiei nu se poate face abstracţie de acest fapt. Mai mult, utilizîndu-se o serie de proceduri (extracţii, ultracentrifugări) pot fi realizate preparate pe care se face examinarea electronomicroscopică directă a macromoleculelor de un anumit tip. Au putut fi observate la microscopul electronic molecule de enzime, de fibrinogen sau de acizi nucleici. Se pune problema dacă cercetările de acest fel se mai pot subsuma histologiei. Răspunsul afirmativ este neîndoielnic. Prelucrările care conduc la vizualizarea cu microscopul electronic a macromoleculelor izolate nu trebuie considerate a fi principal diferite de acelea care permit izolarea celulelor sau a organitelor celulare. Ele oferă doar un nou exemplu privind gradul de profunzime atins de citologie. Cu aceasta s-a pătruns într-o nouă etapă de dezvoltare a citologiei — *etapa biologiei celulare* — în care se urmăreşte desluşirea proceselor biologice care au loc la nivelul structurilor şi al ultrastructurilor celulare.

Difracţia razelor X a fost iniţial utilizată de chimia anorganică în studiul reţelelor cristaline. Ulterior, structura multor macromolecule a fost clarificată cu această metodă. Numărul macromoleculelor biologic importante fiind foarte mare, aceste cercetări au un cert viitor. Pe de altă parte însă, difracţia razelor

Scanned with OKEN Scanner

X a contribuit în mod deosebit la studiul structurilor celulare sau tisulare în care moleculele au o dispoziţie ordonată, cum ar fi elementele contractile din muşchii striaţi şi netezi, tecile de mielină ale nervilor, fibrele de colagen. Din nou deci, studiul organizării chimice a fiinţelor şi cercetarea ultrastructurilor s-au suprapus.

Aşa cum s-a mai spus au fost elaborate numeroase tehnici histochimice, permiţînd să se localizeze la nivelul structurilor şi al ultrastructurilor diferitele substanţe (proteine de structură, enzime, acizi nucleici, glucide, lipide etc.). Prezenţa şi dinamica moleculelor acestor substanţe în teritoriile tisular şi celular au putut fi cercetate autohistoradiografic, cu izotopi radioactivi. În ultimii ani se dezvoltă histochimia şi autohistoradiografia electronomicroscopică. Chiar şi tehnicile uzuale de colorare a preparatelor histologice pentru microscopul fotonic sau electronic dau unele indicaţii (deşi foarte vagi) privind proprietăţile macromoleculelor ce alcătuiesc structurile.

Din examinarea acestor aspecte ale modalităţilor investigaţiei histologice se desprinde ideea că studiul structural al ţesuturilor şi celulelor nu se poate dispensa de cel al constituţiei moleculare a acestora. Datele subcapitolului de faţă au tins să arate două lucruri:

— Nivelul molecular de organizare este cel care suportă imediat nivelul ultrastructural. Înţelegerea proprietăţilor ultimului nu se poate face deci fără cunoaşterea celor care îl caracterizează pe primul.

— În procesul biologic real ca şi în actul experimental cele două nivele se întrepătrund pînă la a fi uneori de nedeosebit. Această întrepătrundere este sursa uneia dintre dificultăţile biologiei celulare moderne. Datorită variatelor asocieri ale macromoleculelor, ele nu pot fi decît rareori identificate direct, la nivelul ultrastructurii, în secţiuni. Imaginea electronomicroscopică este tocmai imaginea agregării, asocierii moleculare. Precizarea cît mai exactă a relaţiei ultrastructură — constituţie moleculară — este una dintre cele mai importante sarcini ale biologiei viitorului.

Din actuala etapă se poate afirma însă că întreaga varietate a lumii vii stă pe baza marii varietăţi a macromoleculelor biologice ale căror proprietăţi sînt condiţionate de mediul specific celular şi tisular, constituit din apă, micromolecule şi ioni. Ambii termeni ai organizării moleculare — macromoleculele şi mediul — vor fi trataţi în cele ce urmează; este utilă însă o prealabilă cunoaştere a distribuţiei elementelor chimice în substanţa vie.

CONSTITUŢIA ELEMENTARĂ A MATERIEI VII

Analizînd materialul tisular de orice provenienţă, o primă constatare ce apare este că sub raport calitativ alcătuirea atomică a substanţei vii este identică cu cea a mediului anorganic. Nu există elemente specifice organismelor, iar dacă unele elemente găsite în învelişurile terestre nu sînt prezente curent în substanţa vie, aceasta nu semnifică o incompatibilitate absolută a vieţii faţă de ele ci reflectă doar raritatea lor sau lenta lor vehiculare geochimică.

Scanned with OKEN Scanner

Ideea existenţei unei asemănări profunde între substanţa vie şi cea inertă este foarte veche, dar abia atomismul modern a putut fi pentru ea o bază ştiinţifică reală. Identificarea elementelor reprezentate în concentraţii foarte mici s-a realizat datorită evoluţiei tehnicilor de analiză spectrală.

S-a constatat că sînt întotdeauna prezente în organisme 21 de elemente, mai ales dintre cele uşoare, cu numere atomice mici (tabel 1). De mare interes este

Tabela 1. Eelementele totdeauna prezente în materia vie.

Grupa 1, elemente abundente prezente în procentaje cuprinse între 2 şi 60 atomi %	H(1)[1] C(6) N(7) O(8)
Grupa 2, elemente puţin abundente prezente în procentaje cuprinse între 0,02 şi 0,1 atomi %	Na(11) Mg(12) P(15) S(16) Cl(17) K(19) Ca(20)
Grupa 3, elemente rare prezente în procentaje inferioare lui 0,02 atomi %	B(5) Si(14) V(23) Mn(25) Fe(26) Co(27) Cu(29) Zn(30) Mo(42) I(53)

1. cifra între paranteze reprezintă numărul atomic.

examinarea măsurii în care sînt reprezentate diferitele elemente în materia vie, pe de o parte, şi în învelişurile terestre, pe de alta (tabel 2). Compoziţia ele-

Tabela 2. Reprezentarea procentuală a elementelor în învelişurile terestre şi în corpul uman.

Elementul	Nr. atomic	Litosferă Atmosferă Hidrosferă %	Corp uman %
Hidrogen	1	0,95	9,31
Carbon	6	0,18	19,37
Azot	7	0,03	5,14
Oxigen	8	50,02	62,81
Fluor	9	0,10	0,009
Sodiu	11	2,36	0,26
Magneziu	12	2,08	0,04
Aluminiu	13	7,30	0,001
Siliciu	14	25,80	neglijabil
Fosfor	15	0,11	0 64
Sulf	16	0,11	0,63
Clor	17	0,20	0,18
Potasiu	19	2,28	0,22
Calciu	20	3,22	1,38
Magneziu	25	0,08	0,0001
Fier	26	4,18	0,005

Scanned with OKEN Scanner

mentară medie a corpului uman diferă sensibil faţă de compoziţia medie a litosferei, hidrosferei şi atmosferei considerate împreună. Organismele extrag din mediu elementele necesare vieţii şi reproducerii, dar realizează aceasta în mod selectiv. Este foarte evident, în primul rînd, faptul că în biosferă se concentrează carbonul şi azotul.

COMPONENTA MACROMOLECULARĂ A MATERIEI VII

Dacă la nivelul alcătuirii elementare nu sînt evidenţiabile proprietăţi specific vitale, o dată cu nivelul macromolecular de organizare se trece în zona unor aspecte diferind calitativ de cele întîlnite în mediul anorganic. Nu trebuie neglijat nici un moment faptul că orice structură sau infrastructură reprezintă în fond agregarea specifică a unui număr de macromolecule de tipuri diferite.

NOŢIUNI GENERALE PRIVIND MACROMOLECULELE

Proprie tuturor macromoleculelor care stau la baza alcătuirii substanţei vii este structura lor de polimeri cu grad înalt de polimerizare, rezultaţi din înlănţuirea (prin legături covalente) a multe resturi de molecule oarecum simple, de natură apropiată sau identică. Compuşii macromoleculari întîlniţi în celule sau produşi de celule sînt proteine, acizi nucleici sau glucide cu moleculă mare. Proteinele sînt polimeri ai L-α-aminoacizilor, acizii nucleici polimeri ai nucleotizilor, iar glucidele macromoleculare polimeri ai glucidelor simple.

Comportarea în celule şi ţesuturi a proteinelor şi acizilor nucleici este determinată în mare parte de faptul că unităţile componente, acizii aminaţi sau nucleotizii, deşi au o serie de proprietăţi chimice comune, nu sînt molecule ale unei singure substanţe. În compoziţia proteinelor se întîlnesc curent 20 de aminoacizi diferiţi, iar în compoziţia acizilor nucleici 5 nucleotizi (în fiecare tip de acid nucleic — ribonucleic sau dezoxiribonucleic — reprezentaţi fiind numai 4). Cum macromoleculele proteice sînt formate din sute şi chiar mii de resturi aminoacidice iar acizii nucleici de asemenea din foarte multe resturi de nucleotizi, rezultă că este posibil să se constituie un număr practic infinit de proteine sau acizi nucleici, fiecare cu un alt număr şi o altă secvenţă a unităţilor componente.

Cercetările moderne asupra acestor compuşi au arătat tocmai că pentru comportarea lor biologică secvenţa monomerilor este esenţială. Datorită calităţii lor de polimeri înalţi, macromoleculele biologice pot avea un spectru extrem de larg de caracteristici şi proprietăţi şi pot efectua de asemenea funcţia de depozit de informaţie — o anumită succesiune în alcătuirea lor reprezentînd un anumit mesaj —, fapt biologic fundamental fără care fenomenul eredităţii ar fi inexistent.

Scanned with OKEN Scanner

Polizaharidele nu se caracterizează prin particularităţi de secvenţă în molecula lor, cel mai adesea subunităţii identice repetîndu-se idefinit.

Proteinele şi acizii nucleici sînt polimeri cu lanţ neramificat, în timp ce polizaharidele pot avea lanţuri moleculare ramificate.

A fost foarte important să se stabilească dacă în mod normal, în mediul apos, aceste lanţuri au o dispunere neordonată sau dacă, dimpotrivă, ele alcătuiesc o structură spaţială mai mult sau mai puţin stabilă. Analizîndu-se comportarea macromoleculelor biologice în soluţii, îndeosebi prin mijlocirea efectului Tyndall (difuzia luminii la trecerea prin medii neomogene), s-a putut constata o importantă stabilitate a organizării spaţiale a filamentelor macromoleculare.

Descrierea fină a acestei organizări a fost posibillă prin utilizarea tehnicii difracţiei razelor X, după cristalizarea diferitelor macromolecule.

Particularităţile de aranjare spaţială vor fi discutate aparte, este necesar să se înţeleagă însă mecanismele prin care o macromoleculă ajunge să aibă o anumită dispunere spaţială. Aceste mecanisme — în fapt forţe — sînt aceleaşi care conduc şi la agregarea macromoleculelor.

Între diferitele segmente ale unui filament macromolecular sau între segmentele unor macromolecule diferite se stabilesc interacţiuni care pot să aparţină unor categorii distincte:

— Interacţiunile *electrostatice* sînt des întîlnite şi, de asemenea, ele însele diferite. Grupările încărcate electrostatic se atrag sau se resping în funcţie de semnele sarcinilor. Forţa de interacţiune F este:

$$F = \frac{q_1 \cdot q_2}{\varepsilon r^2},$$

q_1, q_2 sînt sarcinile electrice ale celor două grupări,
r — distanţa dintre centrele sarcinilor, ε — permitivitatea mediului.

Atracţia poate avea loc între grupări neutre electric, dar prezentînd dipoli. Energia de interacţiune E_{or} este în acest caz:

$$E_{or} = -\frac{\mu_1 \cdot \mu_2}{\varepsilon r^3},$$

μ_1, μ_2 — momentele dipolare, r — distanţa.

Se atrag reciproc o grupare dipolară şi una încărcată electric, ca şi o grupare încărcată sau dipolară cu alta neutră în care prima induce un dipol (grupări polarizabile). Energia interacţiunii în ultimul caz este:

$$E_{ind} = -\frac{2\mu\alpha}{\varepsilon r^6}$$

μ — momentul dipolar al primei grupări şi α — polarizabilitatea grupării a doua. Deosebit de polarizabile sînt dublele legături nesaturate.

Un tip particular de legături electrostatice sînt aşa-zisele legături de hidrogen. Un hidrogen electropozitiv leagă între ei doi atomi electronegativi, datorită faptului că raza hidrogenului electropozitiv este extrem de mică şi, ca atare, el se poate apropia foarte mult de ceilalţi atomi (fără a fi respins prin forţe cuantice Born, de către învelişurile lor electronice).

Scanned with OKEN Scanner

— *Forţele London — Van der Waals*, denumite şi *forţe de dispersie*, sînt dintre cele mai importante în înţelegerea comportării macromoleculelor biologice. Explicarea lor riguroasă presupune cunoaşterea unor elemente de mecanică cuantică. Sumar se poate spune că ele se datorează faptului că în chiar grupările sau chiar moleculele care nu sînt nici ionizate, nici dipolare (ca o comportare într-o perioadă mai lungă de timp), cum ar fi —CH_3, au loc continuu vibraţii electronice care duc la formarea unor dipoli electrici. Pe seama acestor dipoli inconstanţi, fluctuanţi, moleculele sau grupările de atomi se atrag, energia legăturii fiind: $E_{disp} = -\frac{3\alpha^2}{4r^6} Io$. Io — mărime legată de potenţialul de ionizare.

— *Forţele Kirkwood-Shumaker*, de fluctuaţie protonică mai puţin studiate, par a avea un rol foarte important în menţinerea în apropiere a unor macromolecule distincte.

— În sfîrşit, unele porţiuni ale unor macromolecule pot fi legate covalent prin formarea de punţi disulfid.

Interacţiunile electrostatice şi forţele de dispersie se manifestă nu numai între segmentele macromoleculelor, ci şi între acestea şi moleculele de apă sau cele ale altor substanţe dizolvate. În mediul apos, macromoleculele biologice se prezintă ca polielectroliţi, avînd o serie de grupări ionizate (—NH_3^+, —COO^-). Acestea sînt pronunţat hidrofile, atrăgînd în jurul lor moleculele de apă dipolare. În macromoleculele se întîlnesc însă în măsură importantă grupări hidrofobe, nepolare, alcătuite doar din carbon şi hidrogen, care interacţionează mai slab cu apa şi mai puternic între ele. Moleculele mari vor tinde să se plieze, astfel încît să expună mediului apos grupări cu afinitate pronunţată pentru apă şi să ordoneze într-o zonă interioară, fără contact cu apa, porţiunile hidrofobe. Faptul nu este realizabil decît în parte, iar unele dintre grupările apolare stabilesc cu moleculele de apă relaţii esenţiale pentru edificarea substanţei vii.

În genere, macromoleculele se organizează aşa încît să prezinte împreună cu solventul o energie potenţială termodinamică minimă, deci interacţiunile să se petreacă efectiv pînă la degajarea celei mai mari cantităţi de energie cu putinţă. Această lege fizică guvernează atît comportarea macromoleculelor cît şi organizarea lor pînă la nivelul ultrastructurilor şi al structurilor celulare. În conformitate cu ea se constituie componente esenţiale ale celulelor, ca membranele, ribozomii, cromozomii.

PROTEINELE

Proteinele sînt moleculele care fie constituie scheletul structurilor celulare — proteinele de structură, fie îndeplinesc rolul principal în efectuarea proceselor biologice fundamentale — proteinele enzime. Cu alte cuvinte, întreaga diversitate a structurilor şi fenomenelor biologice se bazează îndeosebi pe marea varietate a organizării proteinelor. Evidenţierea directă la microscopul electronic a moleculelor proteice pe secţiuni este rareori posibilă. Totuşi, după prelucrări

Scanned with OKEN Scanner

speciale (aşa cum s-a arătat mai înainte) un număr mare de molecule au fost examinate pe imagini electronomicroscopice. Exemple în acest sens pot fi oferite atît de proteinele-enzime cît şi de proteinele de structură. Cu metode de analiză complexe s-a putut dovedi că proteinele celulare se prezintă sub două forme — globuloase sau fibroase. Proteinele globuloase sau circulare au un diametru în genere sub 100 Å (44 Å pentru o greutate moleculară de 35 000, 97 Å pentru 380 000) şi sînt proteine active metabolic, enzime, hemoglobinele, mioglobina. Macromoleculele proteice filamentoase au cel mai adesea un rol structural. Aspectul lor este cel al unor corpuri extinse mult într-o singură dimensiune. Moleculele de colagen au lungimi de 2 600 Å şi grosimi de 13 Å. Cele de miozină au 1 600 Å lungime şi grosimi variabile cu zona din moleculă (20—30 Å). Fibrinogenul apare sub forma unor molecule de 240 Å lungime şi grosime variabilă (cea maximă fiind de 50 Å). Organizarea macromoleculelor filamentoase sau globuloase se bazează pe o foarte complexă structură chimică interioară. Diferitele tipuri de legături dintre elementele chimice care compun o macromoleculă proteică sînt sistematizate în aşa-numitele structuri primare, secundare, terţiare şi cuaternare.

Structura primară a proteinelor. Această primă treaptă a alcătuirii chimice a proteinelor corespunde naturii lor de polimeri. Monomerii din care se constituie proteinele naturale sînt după cum se ştie L-α-aminoacizii. Formula chimică generală a unui aminoacid este: R—CHNH$_2$—COOH.

Radicalul R diferă de la un aminoacid la altul, putînd fi alifatic sau aromatic, dispunînd sau nu de grupări funcţionale suplimentare (carboxil, amino, hidroxil, tiol). În mod obişnuit se întîlnesc 20 de aminoacizi diferiţi (fig. 2).

Datorită diferenţelor dintre grupările funcţionale de la nivelul radicalului R, aminoacizii pot fi identificaţi histochimic în proteinele celulare şi tisulare. Se pot pune în evidenţă diaminoacizi sau aminoacizi dicarboxilici, tirozina, triptofanul, arginina, cisteina şi cistina şi se poate măsura citofotometric cantitatea lor. S-a constatat că *proteinele diferă sensibil după structuri* prin compoziţia aminoacidă. În nuclei sînt întîlnite în cantitate mare proteine cu un conţinut important de aminoacizi cu grupări bazice suplimentare.

În genere, tehnicile histochimice de detectare a proteinelor trebuie privite ca vizînd sesizarea prezenţei unui grup de aminoacizi.

În proteine, aminoacizii se leagă prin legături peptidice, lanţurile formate fiind denumite polipeptide (fig. 3).

Legătura peptidică este covalentă, stabilă şi prezintă particularitatea importantă pentru structurarea ulterioară o proteinelor că gruparea peptidică ce o conţine (—CO—NH—) dispune de două centre puternic electronegative (atomii de azot şi oxigen) şi un hidrogen pronunţat electropozitiv.

Secvenţa aminoacizilor în proteine, determinantă pentru comportarea lor, este ceea ce se denumeşte obişnuit în biologia moleculară structura primară a acestor compuşi. Astăzi, ea a fost descifrată pentru relativ puţine din moleculele proteice, cum ar fi hemoglobinele, mioglobina, ribonucleaza pancreatică. S-a constatat că o modificare uneori minimă a structurii primare poate duce la modificarea radicală a proprietăţilor proteinei. Celula dispune de mecanisme cunoscute profund, care vor fi tratate ulterior, de a realiza sinteza unei game largi de proteine cu structuri primare riguros constante.

Scanned with OKEN Scanner

Pentru biologie a mai fost necesar să se determine în ce măsură structura primară este stabilă în condiţii normale, deci dacă unii aminoacizi din lanţul polipeptidic pot fi înlocuiţi prin alţii. Experienţe cu aminoacizi marcaţi cu izotopi radioactiv au arătat că un asemenea fenomen este posibil, dar este şi foarte limitat, avînd probabil o mică importanţă funcţională.

Structura secundară. Întrucît la nivelul grupării peptidice există un atom de hidrogen electropozitiv, precum şi un atom de azot şi altul de oxigen electronegativi, este firească legarea atomului de azot al unei grupări peptidice cu atomul de oxigen al alteia printr-o punte de hidrogen. Aceasta se petrece la nivelul oricărei molecule proteice, unde tind să se formeze cît mai multe asemenea legături de hidrogen, cu respectarea însă a unor condiţii suplimentare: unghiurile şi distanţele diferitelor legături covalente de acelaşi tip să fie identice în întreaga moleculă şi atomii legăturii peptidice să se afle într-un plan. Rezultatul aranjării spaţiale a moleculelor de proteine după aceste necesităţi (conforme cu legea anterior menţionată a realizării unei energii potenţiale termodinamice minime) se materializează în structura denumită α-helix, caracteristică majorităţii proteinelor. Această aranjare spaţială reprezintă structura secundară în ordonarea macromoleculelor proteice. Proteinele se reprezintă ca spirale lungi (planşa I) cu 11 resturi de aminoacizi la trei spire. Distanţa dintre două resturi de aminoacizi este de 1,5 Å, iar o perioadă a elicei se întinde pe circa 5,5 Å. Grosimea spiralei este de aproximativ 10Å. Aceste date sînt rezultatele cercetărilor practicate între 1937—1951 de către Pauling şi Corey prin metoda difracţiei razelor X. Nu toate moleculele proteice au însă o structură α-helicoidală. Astfel, în mătase (proteina alcătuită mai ales din glicină, serină şi alanină), legăturile de hidrogen se stabilesc predominent între lanţuri polipeptidice diferite, devenind imposibilă o aranjare helicoidală. În keratină, structura secundară de tipul α-helix este nerealizabilă, datorită resturilor foarte numeroase de cisteină care generează punţi disulfid, iar în colagen datorită prolinei şi hidroxiprolinei. În colagen are loc formarea unor spirale alcătuite din cîte trei lanţuri polipeptidice. Cu aceste excepţii, structura proteică secundară principală rămîne însă α-helixul. Cercetările efectuate prin diferite metode (difuzia luminii, difracţia razelor X) au arătat însă că lanţurile polipeptidice nu au în totalitate, ci doar în anumite porţiuni o structură helicoidală. Aceasta se datorează faptului că molecula proteică dispune şi de structurări superioare celei spiralate.

Structura proteică secundară este mult influenţată de proprietăţile mediului. In cursul fixării ţesuturilor ce urmează a face obiectul cercetărilor histologice se petrece tocmai dezagregarea aranjării normale a lanţurilor polipeptidice cu realcătuirea unor structuri mai stabile, care nu suferă în timp deteriorări prin variaţii de ambianţă.

Structura terţiară. Din tendinţa rezultată pe seama realizării minimului energia potenţiale termodinamice, de aşezare reciproc apropiată şi fără contact cu apa a grupărilor hidrofobe (care se atrag prin forţe de dispersie) şi de stabilirea unor legături electrostatice sau covalente prin punţi disulfid între diferite zone de proteine, lanţurile polipeptidice ajung să aibă aranjări spaţiale mult mai complicate decît cele descrise ca structură secundară.

Scanned with OKEN Scanner

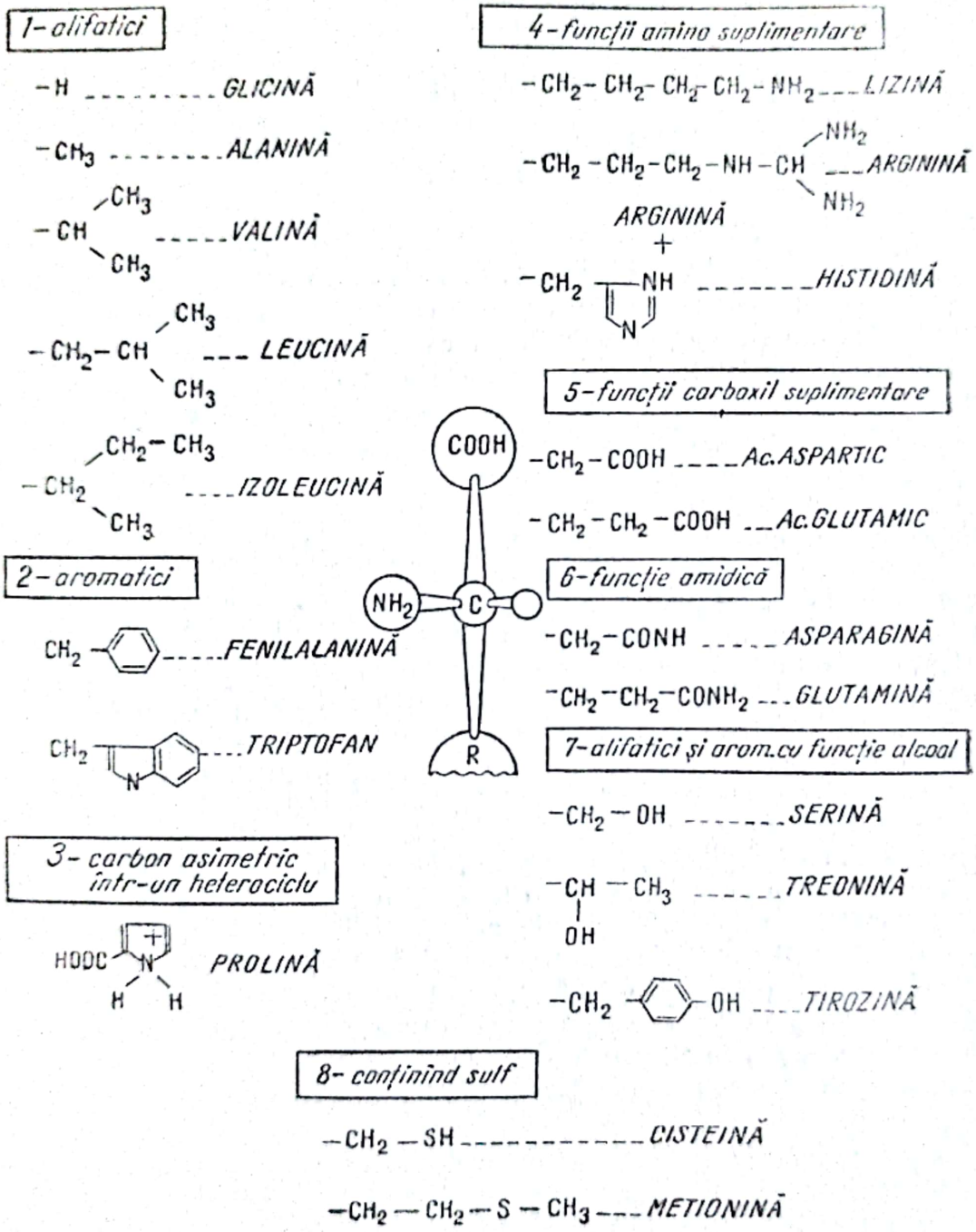


Fig. 2. Aminoacizii curent întîlniţi în proteine.

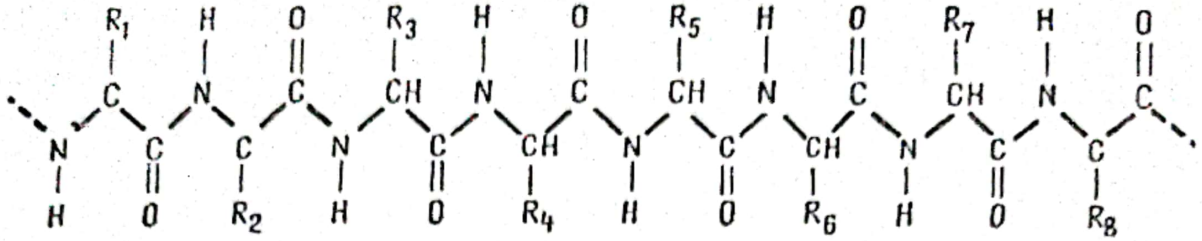


Fig. 8. Lanț polipeptidic. Modalitatea de prezentare este aptă a descrie doar structura primară.

Încolăcirea de grad superior, structura terțiară (termen introdus ca și cel de structură secundară, de Linderstrøm-Lang) a fost descifrată pentru o serie de molecule, printre care mioglobina (fig. 4), utilizîndu-se tot tehnica difracției în raze X. Se știe astăzi că structura terțiară este caracteristică fiecărei molecule proteice. În aranjarea lor spațială complexă, unele molecule proteice înglobează și componente neproteice, cum ar fi grupul hem pentru mioglobină, fragmente glucide sau lipidice în alte cazuri. Este evident faptul că întreaga serie de trepte de organizare a moleculelor proteice apare importantă pentru comportamentul acestora.

Contururilor generale ale moleculelor (dispunînd de organizare terțiară) le corespund aspectele electronomicroscopice semnalate anterior, în primul rînd diferențierea în proteine globuloase și fibrilare. La formarea moleculelor fibrilare participă însă de regulă mai multe lanțuri polipeptidice. Macromoleculele globulare în primul rînd ca enzime sînt importante prin reacțiile în care leagă alte molecule, modificîndu-le acestora reactivitatea. Fenomenul de legare decurge prin intervenția unor grupări funcționale proteice, dar pentru ca acestea să reacționeze adecvat este necesar să se afle într-o anumită poziție reciprocă, fapt realizabil tocmai prin complicatele împachetări ale lanțurilor polipeptidice. Ca entități structurale complexe, proteinele funcționează în calitate de antigeni sau anticorpi. Datorită acestui fapt a apărut imunohistochimia — domeniu care însumează o serie de tehnici ce permit evidențierea electivă în structuri a unei proteine (pe seama proprietăților ei imunologice), prin folosirea de anticorpi specifici, marcați cu molecule fluorescente.

O problemă importantă a biologiei moleculare actuale este aceea de a se afla dacă unei anumite structuri primare îi pot corespunde structuri terțiare diferite. Un răspuns cert nu poate fi deocamdată dat. Se pare însă că în condiții strict determinate o singură structură terțiară este posibilă pentru o structură primară.

Structura cuaternară. Prin termenul de structură cuaternară, introdus de J. Bernal, se înțelege agregarea a două sau mai multe unități proteice cu structuri primare secundare și terțiare caracteristice (prin intermediul aceloraşi forțe descrise anterior), agregare ce duce la formarea unor unități încă și mai mari. Moleculele hemoglobinei, așa cum sînt cunoscute în urma examinării în condiții cvasifiziologice, sînt de fapt agregate compuse din patru unități distincte, avînd deci o structură cuaternară bine definită. Legarea reciprocă

a moleculelor proteice poate duce la formarea unor structuri foarte mari (la scara dimensiunilor moleculare), cum ar fi filamentele de actină sau miozină din muşchi. La procesul formării structurilor cuaternare pot participa şi molecule neproteice, ca acizii nucleici sau lipidele, constituindu-se formaţii ultrastructurale (de exemplu, ribozomi, membranele lipoproteice). De fapt, studiul structurilor proteice cuaternare ne introduce direct în domeniul ultrastructurilor celulare. Acesta este şi motivul pentru care o bună cunoaştere a alcătuirii şi comportamentului proteinelor este fundamentală înţelegerii biologiei celulei. Pe de altă parte, histochimia poate fi deosebit de utilă în descifrarea modului în care moleculele proteice generează formaţiuni mai mari cu organizare particulară. Dispunerea moleculelor de colagen în alcătuirea fibrilelor a fost înţeleasă prin examinarea la microscopul electronic a unor preparate tratate cu acid fosfotungstic (care se fixează la nivelul resturilor de arginină), comparativ cu altele colorate cu săruri de uranil (care indică poziţia resturilor glutamil şi aspartil).

Dinamica structurii proteice. Structurile secundare, terţiare şi cuaternare ale proteinelor se modifică mult în funcţie de condiţiile de mediu. Merită a fi analizate cîteva cazuri de modificare a structurii macromoleculelor proteice, sub acţiunea moleculelor ambiante.

La suprafaţa de separare între un mediu apos şi altul lipidic, moleculele proteice tind să se deplieze, aranjîndu-se într-un singur strat de 10 Å grosime. Efectul acesta intervine în mecanismul formării membranelor biologice. Microscopia electronică evidenţiază constant la citomembrane aspecte ce se presupun a reprezenta straturile proteice, sau cel puţin zona demarcaţiei lor.

Dispunerea grupărilor electropozitive şi electronegative la suprafaţa moleculelor de proteine este influenţată de pH şi de existenţa unor ioni (de exemplu, ionul de Ca). O dată cu această modificare a dispunerii grupărilor se schimbă şi proprietăţile moleculei, fapt important în cataliza enzimatică sau în domeniul unor proprietăţi ca adezivitatea membranelor plasmatice.

Legarea unei anumite molecule într-o zonă a macromoleculei proteice poate duce la modificarea conformaţiei altei zone a acesteia (fenomenul tranziţiei alosterice). Acest fapt are repercusiuni, dacă proteina este o enzimă, asupra proprietăţilor ei catalitice. Pe această bază se petrece în mod normal controlul prin feed-back al activităţii multor enzime.

În anumite condiţii (pH, temperatură, concentraţie salină), proteinele pot suferi denaturări, deci transformări care le fac inapte pentru funcţiile biologice şi care pot fi reversibile sau ireversibile.

În sfîrşit se presupune astăzi că transportul activ al unor molecule sau ioni prin membrane ar putea fi condiţionat de aşa-zisele locuri mobile. Locurile mobile se consideră a fi proteine (aparţinînd membranelor) care fixează molecula (sau ionul) ce urmează a fi transportată pe o faţă a membranei şi apoi printr-o modificare de conformaţie o aduce la nivelul feţei opuse.

Scanned with OKEN Scanner

ACIZII NUCLEICI

Alături de proteine, acizii nucleici sînt macromolecule de mare importanţă pentru manifestările şi evoluţia vieţii. În limitele cunoştinţelor actuale, funcţia lor principală este aceea de a face ca în celulă să poată fi sintetizate proteinele necesare, imprimîndu-li-se structuri primare adecvate şi constante în cadrul unui ciclu celular sau în generaţii celulare succesive.

Cu tehnicile histologice clasice, în nucleu şi în zone din citoplasma unor celule (neuroni, celule secretante de proteine) prezenţa acizilor nucleici este sugerată prin reţinerea la aceste nivele a coloranţilor bazici. Metode speciale de colorare (Feulgen, verde metil şi pironină, albastru de metilen după acetilare etc.), precum şi absorbţia în ultraviolet (radiaţia cu lungime de undă de 2 600 Å) evidenţiază specific în celule acizii nucleici. Electronomicroscopic, filamente sau corpusculi (reprezentînd agregate de acizi nucleici şi proteine) pot fi evidenţiate în nuclei, în matricea citoplasmatică sau, în matricea mitocondrială. În microscopia electronică se pot utiliza colorări elective ale acizilor nucleici cu săruri de uranil, indiu, lantan. Unele noţiuni de structură chimică a acizilor nucleici sînt strict necesare înţelegerii alcătuirii şi funcţiilor celulare.

Acizii nucleici sînt polimeri formaţi din lanţuri de resturi nucleotidice legate prin punţi fosfodiester. În structura unui nucleotid apare o *bază azotată* — purinică sau pirimidinică, o *pentoză*-riboza sau dezoxiriboza şi *fosfatul*. Bazele azotate curent întîlnite sînt adenina, guanina (purinice), citozina, uraciul şi timina (pirimidinice). În natură se află două varietăţi de acizi nucleici: acidul dezoxiribonucleic (în constituţia căruia se întîlneşte dezoxiriboza, iar ca baze adenina, guanina, citozina şi timina) şi acidul ribonucleic (în care riboza ia locul dezoxiribozei, iar timina este substituită prin uracil). Nucleotizii celor doi acizi nucleici diferă deci prin componenţa glucidică şi, eventual, baza pe care o conţin.

Acidul dezoxiribonucleic (ADN). ADN apare în celulă sub forma unor molecule cu grad înalt de polimerizare (încă greu de apreciat exact).

Într-o moleculă de ADN, secvenţa nucleotizilor este caracteristică. Această înlănţuire de nucleotizi se defineşte ca structură primară a acidului nucleic. În această structură primară se află depozitată informaţia necesară realizării structurii primare a moleculelor proteice. Moleculele de ADN sînt deci esenţial diferite între ele în funcţie de structura primară.

Asemănător moleculelor de proteină, ADN îşi constituie o structură secundară, de data aceasta dublu helicoidală, rezultată din înfăşurarea împreună a două lanţuri polinculeotidice (planşa II). Determinantă pentru realizarea structurii secundare este formarea de legături de hidrogen între bazele purinice şi pirimidinice ale celor două lanţuri, ca şi tendinţa grupărilor fosfat, încărcate negativ, de a se dispune cît mai distanţat. O bază dintr-un nucleotid al unui lanţ se leagă cu o bază aparţinînd unui nucleotid al celuilalt lanţ. Numărul legăturilor de hidrogen ce pot forma bazele nu este unic. Timina formează două legături cu adenina, iar citozina trei legături cu guanina. Ca atare, la formarea dublei elice nu pot participa decît lanţuri polinucleotidice în care timina corespunde

Scanned with OKEN Scanner

adeninei şi citozina guaninei. Grosimea filamentului dublu helicoidal este de 20 Å. Perioada elicei este de 34 Å, distanţă pe care se situează 10 resturi nucleotidice. Aceste detalii au devenit cunoscute datorită cercetărilor lui Watson, Crick şi Wilkins, bazate pe datele obţinute prin difracţia în raze X.

Pentru funcţia ADN, două tipuri de modificări structurale sînt importante. Cele două lanţuri polinucleotidice se pot desface, fiecare dintre acestea urmînd a fi matrice pentru reconstituirea lanţului complementar din nucleotizi (de fapt, în mod concret din nucleozid trifosfaţii corespunzători nucleotizilor, situaţi în poziţiile adecvate pe seama complementarităţii bazelor). Un lanţ de ADN poate alcătui un lanţ de ARN cu structură primară complementară, formarea lanţurilor polinucleotidice pe o matrice de ADN petrecîndu-se simultan cu desfacerea înfăşurării dublu spiralate.

Gradul de hidratare a moleculelor de ADN poate să varieze, ducînd la o împachetare mai strînsă sau mai laxă. Acest fapt este extrem de important în unele fenomene celulare, în primul rînd în mitoză.

În afară de modificările funcţionale semnalate, degradarea structurii secundare a ADN în cursul prelucrării ţesuturilor trebuie notată, întrucît poate influenţa defavorabil evidenţierile histochimice.

Moleculele de ADN sub forma dublelor spirale par să aibă o rigiditate destul de înaltă, nepermiţînd o pliere suplimentară a lor. ADN se combină cu proteinele, îndeosebi cu histonele (proteine bazice cu moleculă relativ mică). Prin combinarea ADN-proteine se constituie cromozomii, printr-o serie de trepte de organizare ce vor fi tratate într-un alt capitol.

Acidul ribonucleic (ARN). Acest acid nucleic apare în celulă sub trei varietăţi: ARN mesager (ARN-m), ARN ribozomal (ARN-r) şi ARN solubil (ARN-s). Această discriminare are la bază în primul rînd funcţia diferită în sinteza proteică a fracţiunilor ARN; ea corespunde însă şi unor realităţi structurale. În genere, se poate spune că moleculele de ARN asemănătoare celor de ADN se caracterizează prin secvenţa particulare ale resturilor nucleotidice. Se poate vorbi de o structură primară a ARN. Din datele disponibile astăzi asupra sintezei de ARN (realizate aşa cum s-a arătat mai sus pe matricea constituită de molecule de ADN) se poate conchide că totdeauna structura primară a unei molecule de ADN este complementară structurii primare a unei molecule de ADN sau a unei porţiuni de moleculă de ADN. Structura secundară a acizilor ribonucleici este mult mai puţin constantă decît cea a ADN, structurarea terţiară fiind adesea deosebit de complicată (fig. 5).

Funcţiile şi structurile diferiţilor acizi ribonucleici vor fi detaliate în capitolele următoare. Demn de notat este deocamdată faptul că ARN-r se cuplează cu unele proteine, din acest proces rezultînd formaţiunile denumite ribozomi.

POLIZAHARIDELE ŞI MUCOPOLIZAHARIDELE

Sînt compuşi macromoleculari rezultaţi fie din polimerizarea glucidelor simple, fie din cea a unor derivaţi ai acestora. Se întîlnesc în natură sub forma unei remarcabile varietăţi de substanţe, care însă nu este în dependenţă (ca

Scanned with OKEN Scanner

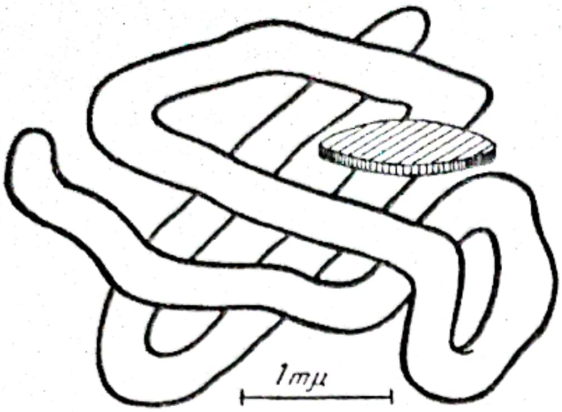


Fig. 4. Reprezentarea schematică a structurii terţiare a mioglobinei. Discul redă dispunerea grupului hem.

în cazul proteinelor sau al acizilor nucleici) de secvenţa subunităţilor componente, întrucît în genere o anumită entitate structurală (formată din 1 sau 2 resturi moleculare) se repetă indefinit. Chiar şi în cazul heteropolizaharidelor, în molecula cărora se întîlnesc monozaharide de mai multe tipuri, secvenţa acestora nu duce la o diversificare de proprietăţi comparabilă cu cea a claselor de macromolecule anterior descrise.

Glucidele cu moleculă mare au pentru viaţă o importanţă mult mai puţin largă decît proteinele sau acizii nucleici. Ele reprezintă fie o formă de depozitare a energiei, fie substanţe prin care celulele îşi organizează o ambianţă specifică.

Polizaharidele. Cele mai importante dintre acestea sînt polimeri cu grad de polimerizare de la cîteva sute la cîteva mii. Trei polizaharide care se remarcă fiind deosebit de răspîndite în lumea vegetală şi animală, sînt formate exclusiv din molecule cu glucoză unite prin legături glicozidice. Acestea sînt celuloza, amidonul şi glicogenul.

Celuloza este substanţa cu rol mecanic larg răspîndită în edificarea ţesuturilor vegetale. Baza structurală a celulozei o constituie celobioza (un dizaharid alcătuit din glucoză).

Amidonul este rezerva glucidică a plantelor. El poate fi descompus în amiloză şi amilopectină. Pentru amiloză, baza structurală este maltoza (dizaharid), care alcătuieşte lanţuri neramificate. Amilopectina prezintă ca baze structurale maltoza şi izomaltoza, fiind constituită din lanţuri ramificate aproximativ o dată pentru 24 de resturi de glucoză.

Glicogenul este glucidul de depozit prezent în ţesuturile animale (în cantităţi mari în ficat şi muşchi). Studiul histochimic şi electronomicroscopic al distribuţiei glicogenului este deosebit de important pentru cunoaşterea biologiei celulei hepatice şi a celei musculare. În microscopia optică, glicogenul este colorat cu metodele carmin Best, PAS (periodic acid Schiff) şi Bauer-Feulgen. În microscopia electronică se folosesc pentru evidenţieri de glicogen săruri de plumb, acesta apărînd sub forma unor corpi denşi multipli cu contururi

Scanned with OKEN Scanner

neregulate şi puţin nete şi dimensiuni variabile de la cîteva sute la cîteva zeci de Å. Chimic, structura glicogenului este foarte asemănătoare cu cea a amilopectinei, dar reprezintă o ramificaţie mai pronunţată (pînă la o dată pentru 3—5 resturi de glucoză) şi are o pondere moleculară mai mare (circa 10^6 pentru glicogenul muscular şi $5 \cdot 10^6$ pentru cel hepatic). Moleculele iau forma unor elipsoizi plaţi şi în genere sînt solubile în apă. În ţesuturi moleculele de glicogen se află într-o continuă dinamică: în condiţii proprii depozitării, ele îşi sporesc masa prin adaosul a noi resturi glucozice, avînd loc un proces invers cînd se iveşte un necesar de glucoză. Sub acest aspect, centrele moleculelor sînt mult mai stabile decît zonele periferice.

Mucopolizaharidele. Acestea sînt în fond tot polizaharide, monomerii lor fiind însă combinaţii derivate ale monozaharidelor. În moleculele lor apar în primul rînd aminozaharuri şi acizi uronici. Se întîlnesc la suprafaţa membranelor plasmatice şi în relaţie cu proteinele extracelulare, participînd la formarea unui mediu optim desfăşurării proceselor celulare. Sînt constituenţi esenţiali ai unor structuri ce vor fi larg studiate în capitolele următoare şi în mod special la membranele bazale. Reacţii histochimice specifice evidenţiază mucopolizaharidele (metodele PAS, albastru Alcian, albastru Astra, reacţia cu fier coloidal). Dintre mucopolizaharide deosebit de răspîndite şi importante pentru structurile tisulare sînt chitina, acidul hialuronic şi acizii condroitinsulfurici.

Chitina este un homopolizaharid (polizaharid format din resturi moleculare aparţinînd unei singure substanţe). Are o catenă liniară neramificată, asemănătoare cu cea a celulozei, în locul resturilor de glucoză apărînd resturi de N-acetilglucozamină. Este constituentul principal al structurilor cu rol mecanic la insecte şi crustacee.

Acidul hialuronic constă în repetarea unei unităţi dizaharidice compusă din acid glucuronic şi N-acetilglucozamină. Molecula acidului hialuronic apare neramificată sau foarte puţin ramificată. Greutatea moleculară a acidului hialuronic ajunge la multe milioane. Component principal al subsanţei fundamentale a ţesutului conjunctiv, acest mucopolizaharid este în importantă măsură cuplat cu proteinele. Poate suferi modificări ale gradului de polimerizare cu repercursiuni asupra funcţiei ţesutului căruia îi aparţine.

Acizii condroitinsulfurici sînt, de asemenea, componenţi ai substanţei fundamentale a ţesutului conjunctiv. Se află în cantitate mare în cartilaje. Se izolează condroitin sulfaţii A, B, C. Condroitinsulfatul A este format din repetarea unităţii dizaharidice compuse din acid glucuronic şi N-acetilglucozamin-4-sulfat. În condroitin sulfatul C se întîlneşte N-acetilglucozamin-6-sulfatul, iar în condroitin sulfatul B un alt acid uronic, acidul iduronic (fig. 6). Condroitinsulfaţii sînt asociaţi cu proteinele şi mai ales cu colagenul.

În ţesutul conjunctiv animal se mai întîlnesc ca mucopolizaharide cheratosulfatul, heparina, heparinmonosulfatul şi condroitina. Contribuţia mucopoli-

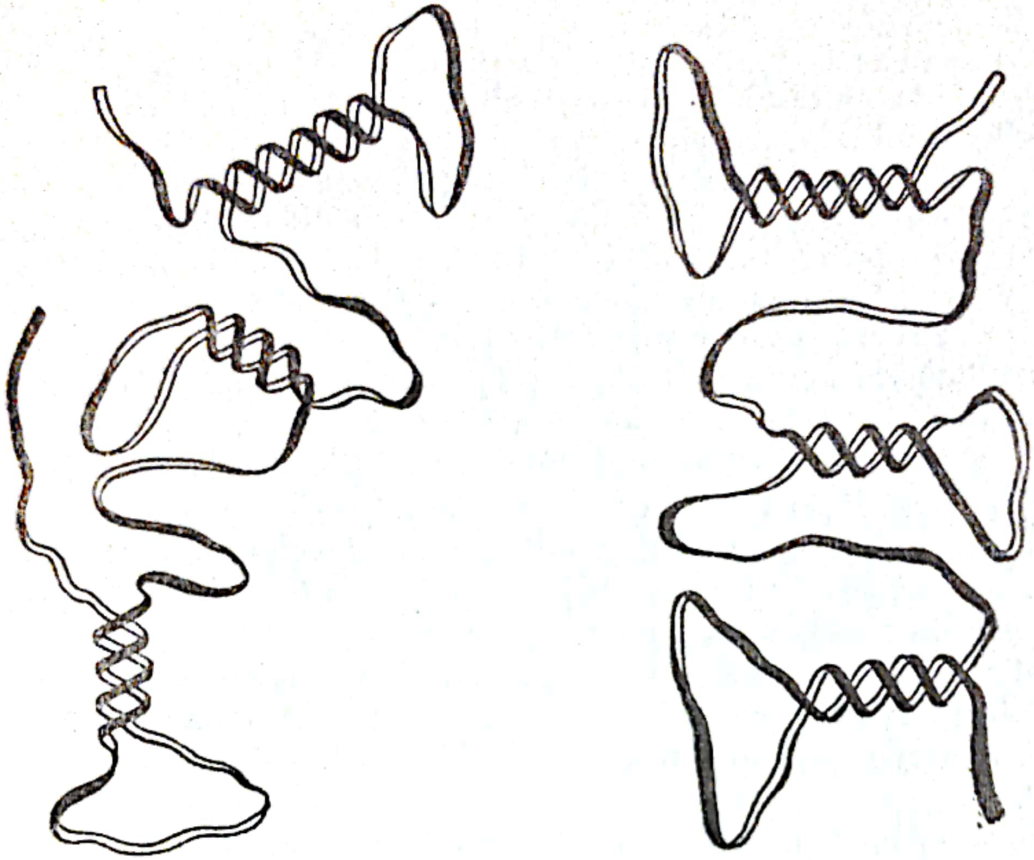


Fig. 5. Aspecte de structură secundară şi terţiară în moleculele de ARN.

zaharidelor la formarea mediului extracelular este deosebit de mare. Datorită lor, ţesuturile animale suportă condiţiile impuse de mobilitatea lor, avînd în acelaşi timp o satisfăcătoare rezistenţă mecanică. În egală măsură, mucopolizaharidele intervin în reglarea schimburilor celulare.

Glicoproteinele. S-a putut vedea mai sus că mucopolizaharidele se prezintă normal cuplate cu proteinele. O cuplare de un tip particular al glucidelor cu proteinele duce la formarea unei clase de compuşi denumiţi glicoproteine, care chimic trebuie consideraţi în primul rînd proteine, de care prezintă particularităţi condiţionate în mare măsură de componenta glucidică.

Pe scheletul alcătuit de un lanţ polipeptidic se ataşează lanţuri glucidice scurte (oligozaharide) prin legături esterglicozidice (la grupele carboxil ale resturilor de acid aspartic sau glutamic), prin legături O-glicozidice (cu funcţiile hidroxil aparţinînd serinei sau treoninei) sau prin legături N-glicozidice (cu grupa amidică a asparaginei). În oligozaharidele glicoproteinelor se întîlnesc N-acetilglucazamina, acidul N-acetilneuramic, L-fucoza şi galactoza. Glicoproteinele sînt importante cu antigeni sau mucoide (componenţi ai secreţiilor mucoase, cu rol mecanic sau de protecţie faţă de agenţi chimici nocivi).

Scanned with OKEN Scanner

LIPIDELE ŞI ROLUL LOR ÎN AGREGAREA MACROMOLECULELOR BIOLOGICE

S-a notat anterior în acest capitol, în repetate rînduri, tendinţa macromoleculelor de a forma agregate alcătuite din componenţi aparţinînd fie aceleiaşi clase, fie unor clase distincte. Aşa cum s-a mai arătat, pe seama acestei tendinţe se organizează ultrastructurile celulare şi tisulare. În procesul agregării macromoleculelor proteice, un rol fundamental revine lipidelor. Fără a aparţine compuşilor macromoleculari este necesară o succintă tratare a lor în cadrul acestui subcapitol. Orice structură celulară membranoasă evidenţiată electronomicroscopic semnalează prezenţa lipidelor specific organizate.

O mare varietate de tehnici histochimice evidenţiază diverse lipide intracelulare. Principiile diferite ale metodelor (folosind solubilitatea în lipide a unor coloranţi, calitatea de a fi acide a unora dintre lipide, existenţa unor legături nesaturate la acestea) trădează complexitatea acestei categorii de substanţe.

Noţiuni de chimie a lipidelor. Sub denumirea de lipide este cunoscută o clasă de compuşi ce au comun mai curînd unele caractere fizice (de exemplu, solubilitatea în solvenţi organici) decît alcătuirea chimică. În majoritate, ele prezintă în moleculă legături esteri şi au în compoziţie acizi graşi cu catenă lungă Uneori, clasa lipidelor este divizată în grăsimi şi lipoide, substanţe asemănătoare grăsimilor, avînd însă alcătuiri chimice diverse.

Grăsimile neutre, rezultînd din esterificarea cu acizi graşi a celor trei grupări hidroxil ale glicerolului, sînt întîlnite în organisme doar ca grăsimi de depozit. Glicerofosfatidele sînt compuşi ai acidului L-α-glicerofosforic Grupările hidroxil ale acestuia sînt esterificate de acizi graşi. Grupul fosfat poate fi liber sau esterificat cu colină, etanolamină, serină, inozită. În molecula unor glicerofosfatide, legătura esterică poate fi înlocuită cu una eter-enol. Datorită acestei diversităţi de alcătuire, glicerofosfatidele se împart în acizi fosfatidici, lecitine, cefaline, inozitfosfatide, plasmalogeni.

Sfingolipoidele conţin în locul glicerolului sau a derivaţiilor acestuia aminodialcoolul sfingozina. Ele pot fi fosforate sau nu şi se divizează în sfingomieline, cerebrozide, sulfatide şi gangliozide.

Sterolii se caracterizează prin prezenţa unui nucleu policiclic (derivat ciclopentanoperhidrofenantrenic). Reprezentantul cel mai important al acestei clase (din punctul de vedere al citologiei) este colesterolul.

Ca acizi graşi frecvent întîlniţi în lipide pot fi citaţi: acidul palmitic, stearic, oleic, linoleic, linolenic, arahidonic.

Glicerofosfatidele, sfingolipoidele şi sterolii participă la alcătuirea structurilor celulare, organizarea substanţei vii dincolo de treapta moleculară fiind imposibil de conceput în absenţa lor. Pentru calitatea ce o au de lipide de

Scanned with OKEN Scanner

constituie, este important faptul că multe dintre ele, cele fosforate şi cerebrozidele, prezintă molecule pronunţat asimetrice, dispunînd de grupări hidrofile (apte de a forma legături de hidrogen) şi, în acelaşi timp, de lungi catene hidrofobe ce interacţionează reciproc prin forţe de dispersie.

Rolul lipidelor în organizarea ultrastructurilor. La limita de separare a două faze (de exemplu, aer şi apă), lipidele polare tind să formeze un film monomolecular în care polii hidrofili sînt orientaţi spre apă, iar porţiunile hirofobe se dirijează în sens invers, fiind menţinute în reciproca apropiere prin forţe de dispersie. Chiar în interiorul unei soluţii asemenea filme se pot forma, în condiţii particulare de pH, concentraţie, temperatură etc.

Ele au în acest caz o structură *bimoleculară* (fig. 7). Porţiunile hidrofobe ale celor două straturi de molecule se dirijează pe interiorul filmului, iar polii hidrofili spre exterior în contact cu apa. Asemenea filme bimoleculare reprezintă suporturi optime pentru agregarea moleculelor proteice în straturi, aşa cum s-a arătat anterior. Acest fenomen al formării filmelor lipoproteice stă la baza alcătuirii tuturor membranelor celulare.

Interacţiunea proteinelor cu membranele bimoleculare lipidice în celule s-a considerat multă vreme a decurge prin intermediul grupărilor polare ale celor doi constituenţi. Actualmente pare tot mai posibilă asocierea grupărilor apolare care se leagă reciproc prin forţe de dispersie. Forţele manifestate între moleculele de proteină sînt greu de apreciat, dar dacă ele alcătuiesc un strat continuu faptul se datorează capacităţii lor de a reduce tensiunea superficială la interfaţa lipide-apă.

Membranele lipoproteice constituie la rîndul lor suporturi pentru fixarea altor molecule sau particule celulare. Exemple în acest sens sînt asocierea unor proteine enzimatice cu citomembranele, asocierea ribozomilor cu aceleaşi formaţiuni (în cadrul reticulului endoplasmic rugos), a mucopolizaharidelor la faţa externă a membranelor plasmatice.

Lipidele frecvent întîlnite în membrane sînt acidul fosfatidic, fosfatidiletanolamina, fosfatidilcolina, fosfatidilserina, sfingomielina, cerasina şi colesterolul.

*

* *

Tratînd componenta macromoleculară a substanţei vii, acest subcapitol a neglijat o serie de aspecte ce par a fi de mare importanţă, dar care sînt încă relativ puţin precizate. Dintre ele pot fi citate comportarea macromoleculelor ca semiconductori sau înmagazinarea energiei în molecule sub forma unor tranziţii cuantice de stare. Buna lor cunoaştere va modifica probabil în viitor biologia celulară. O serie de fenomene implicînd macromoleculele, presupunînd însă intervenţia complexă a unuia sau mai multor organite, ca şi problema foarte largă a catalizei enzimatice revin sau altor capitole ale histologiei sau altor discipline biologice. S-a încercat să se arate prin ce proprietăţi macromoleculele sînt un element al bazei edificiului celular. Urmează a fi discutat celălalt element de o importanţă egală — mediul în care se manifestă proprietăţile macromoleculelor.

Scanned with OKEN Scanner

335.739

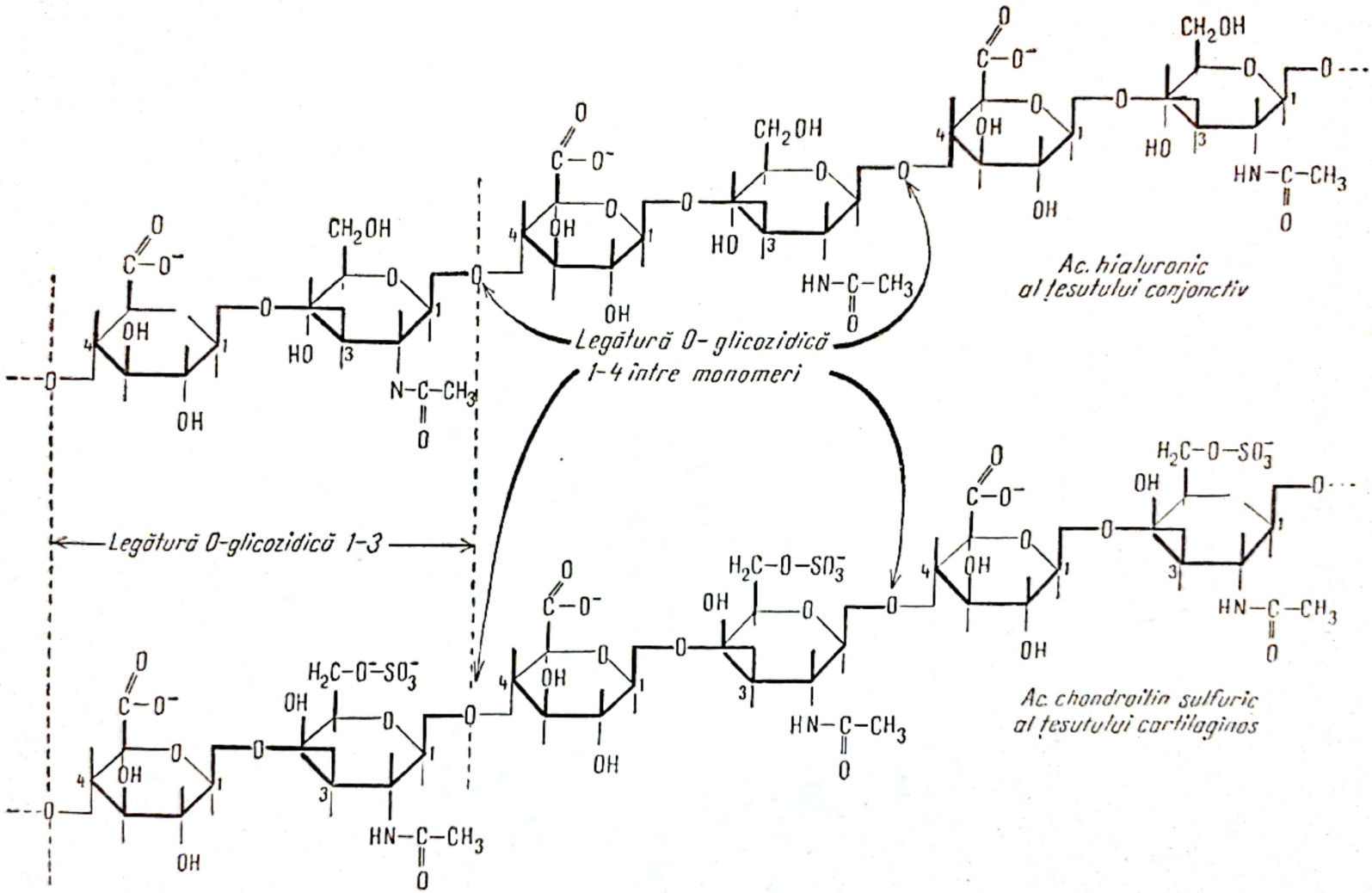


Fig. 6. Structură chimică a unor molecule polimucopolizaharidice

Biblioteca municipală Tîrgu-Mureș

Scanned with OKEN Scanner

APA, IONII ŞI MICROMOLECULELE

Apa conţinînd ioni şi substanţe micromoleculare reprezintă ambianţa indispensabilă în care are loc organizarea ultrastructurilor şi structurilor şi în care decurg toate procesele vitale. Apa nu trebuie privită ca un simplu solvent şi mediu de dispersie, ci ca o parte integrantă a componentelor ţesuturilor şi a celulelor. Vor fi analizate particularităţile fizico-chimice ale apei şi modul în care aceasta îi conferă situaţia sa specială în materia vie. Evident nu poate fi descrisă aici o gamă tot atît de largă de proprietăţi ca acea întîlnită în studiul macromoleculelor, însă numărul mai mic de aspecte nu semnifică un caracter mai puţin esenţial al lor.

Proprietăţi fizico-chimice ale apei. După cum se ştie, molecula de apă este formată dintr-un atom de oxigen şi doi atomi de hidrogen. Oxigenul apare ca electronegativ, iar atomii de hidrogen ca electropozitivi. Multe din proprietăţile apei au la bază faptul că în moleculele acesteia centrul sarcinilor pozitive nu corespunde cu cel al sarcinilor negative, ceea ce le conferă un puternic caracter dipolar. Ca o consecinţă, apa are o constantă dielectrică mare ($\varepsilon \approx 80$), deci în apă atracţia dintre sarcinile pozitive şi negative se atenuează foarte mult. Substanţele compuse din molecule dipolare vor fi bine solvite de apă, iar cele conţinînd legături ionice vor tinde să se disocieze electrolitic. Apa însăşi se disociază în ioni de hidrogen (mai exact hidroxoniu OH_3^+) şi hidroxil (OH^-). Concentraţia acestor ioni în apă este esenţială comportării diferitelor molecule care în cursul disocierii lor eliberează sau captează unul din ionii menţionaţi. Produsul concentraţiei ionilor de hidrogen cu concentraţia ionilor hidroxil este constant pentru anume temperatură (egal cu $1{,}008 \cdot 10^{-14}$, la 25°C).

Datorită caracterului dipolar, moleculele de apă interacţionează cu ionii, ordonîndu-se radiar în jurul lor, formînd astfel un înveliş de hidratare mai voluminos sau mai redus, mai stabil sau mai labil în funcţie de densitatea sarcinii ionului. Cu moleculele polare dar nedisociate apa stabileşte interacţiuni dipol-dipol.

Pentru explicarea comportării fizico-chimice a apei a fost importantă constatarea că în stare lichidă moleculele acestei substanţe tind să se organizeze regulat, constituind un gen de microcristale care se dezagregă şi se refac continuu. Aceasta se datorează formării de legături de hidrogen între moleculele de apă. Într-adevăr, în gheaţă moleculele sînt legate rigid prin legături de hidrogen, iar la topire doar aproximativ 15% dintre legături se rup. Microcristalele care se formează în apa lichidă au dimensiuni de circa 10 Å şi o aranjare hexagonală sau pentagonală cu unele defecte însă — moleculele pot fi absente din structură sau prezente în locuri normal interzise (fig. 8). Multe proprietăţi ale apei depind de această organizare moleculară. Între acestea remarcabile corelativ cu fenomenele biologice sînt marea mobilitate a ionilor H^+ şi OH^- şi ridicata căldură specifică a apei. Între 30 şi 40°C, structura apei tinde să se distrugă total.

Scanned with OKEN Scanner

I. M. Klotz şi L. Pauling s-au preocupat de relaţiile moleculelor apolare cu apa, ţinînd cont de structura acesteia. S-a putut ajunge la concluzia că apa tinde să constituie în jurul moleculelor apolare zone ordonate, cvasicristaline, cu structuri pentagonale sau hexagonale. S-a constatat că o aranjare similară se petrece în vecinătatea suprafeţelor solide, de exemplu a foilor de mică. Grupările apolare ale proteinelor ordonează pronunţat apa alcătuind structuri cvasicristaline denumite figurat aisberguri. Într-o serie de ţesuturi, prezenţa unei importante cantităţi de apă cu moleculele dispuse ordonat a putut fi constatată experimental indubitabil prin mijlocirea fenomenului de rezonanţă paramagnetică. Deosebita semnificaţie a acestor fapte pentru procesele biologice a fost sezisată îndeosebi de Albert Szent-Györgyi

Apa şi fenomenele celulare. Formarea agregatelor de apă în jurul moleculelor proteice şi probabil a altor macromolecule condiţionează în mare măsură comportamentul substanţei vii. Stabilitatea structurilor pare dependentă de această creştere a structurării apei prin macromolecule. Denaturarea proteinelor, reversibilă sau ireversibilă, are la bază cel puţin în parte o dezagregare a structurilor de apă. Considerînd astfel lucrurile, trebuie remarcat că în absenţa capacităţii apei de a forma microcristale în stare lichidă viaţa ar fi imposibilă.

Prin apa cristalină, moleculele difuzează foarte lent şi astfel o serie de grupări din proteine înglobate în zonele de apă structurală sînt menţinute areactive (mascate), reprezentînd un fel de rezervă funcţională a celulei. Cum prin apa structurală ionii H^+ se deplasează cu mare uşurinţă (ca şi atomii H liberi), net mai rapid ca în lichidul dezordonat, în celule pot avea loc procese de oxidoreducere la distanţă, grupa care se oxidează netrebuind să intre în contact cu cea care se reduce.

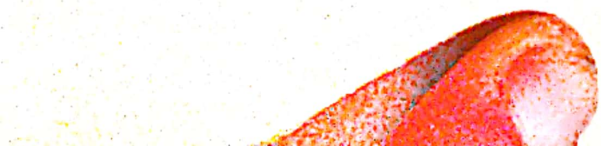
Formarea de aisberguri pare să aibă un rol determinant în selectivitatea membranelor biologice. Ionii mici care se pot include în structurile de apă prezintă un coeficient de permeabilitate ridicat, în timp ce pentru ionii mari membranele sînt puţin permeabile.

Nu trebuie neglijate nici alte proprietăţi fizico-chimice ale apei importante în comportarea celulară. Astfel, proprietăţile ionilor întîlniţi în organisme sînt în mare măsură determinate de învelişul de hidratare.

Încheiînd astfel subcapitolul trebuie remarcat că tratările tradiţionale distingeau o serie de compartimente ale apei intracelulare sau interstiţiale ca apa liberă, apa legată, apa de structură. Această împărţire corespundea unor rezultate experimentale, dar actualmente se preferă studierea mai în profunzime a stării fizico-chimice a apei din organisme, pe această cale obţinîndu-se date mai precise asupra organizării substanţei vii.

Ionii şi micromoleculele. În celule şi ţesuturi se întîlnesc o serie de cationi (de sodiu, potasiu, calciu, megneziu etc)., anioni (fosfat, clor, bicarbonat etc.) sau molecule mici (aminoacizi, oligopeptide, monozaharide, acizi graşi, vitamine, diferiţi metaboliţi). Rolul acestora este exclusiv funcţional.

Aşa cum s-a arătat anterior, ionii determină în mare măsură comportarea macromoleculelor. Distribuţia lor este specifică. Astfel, potasiul apare predominent intracelular, iar sodiul extracelular. Situarea ionilor condiţionează



Scanned with OKEN Scanner

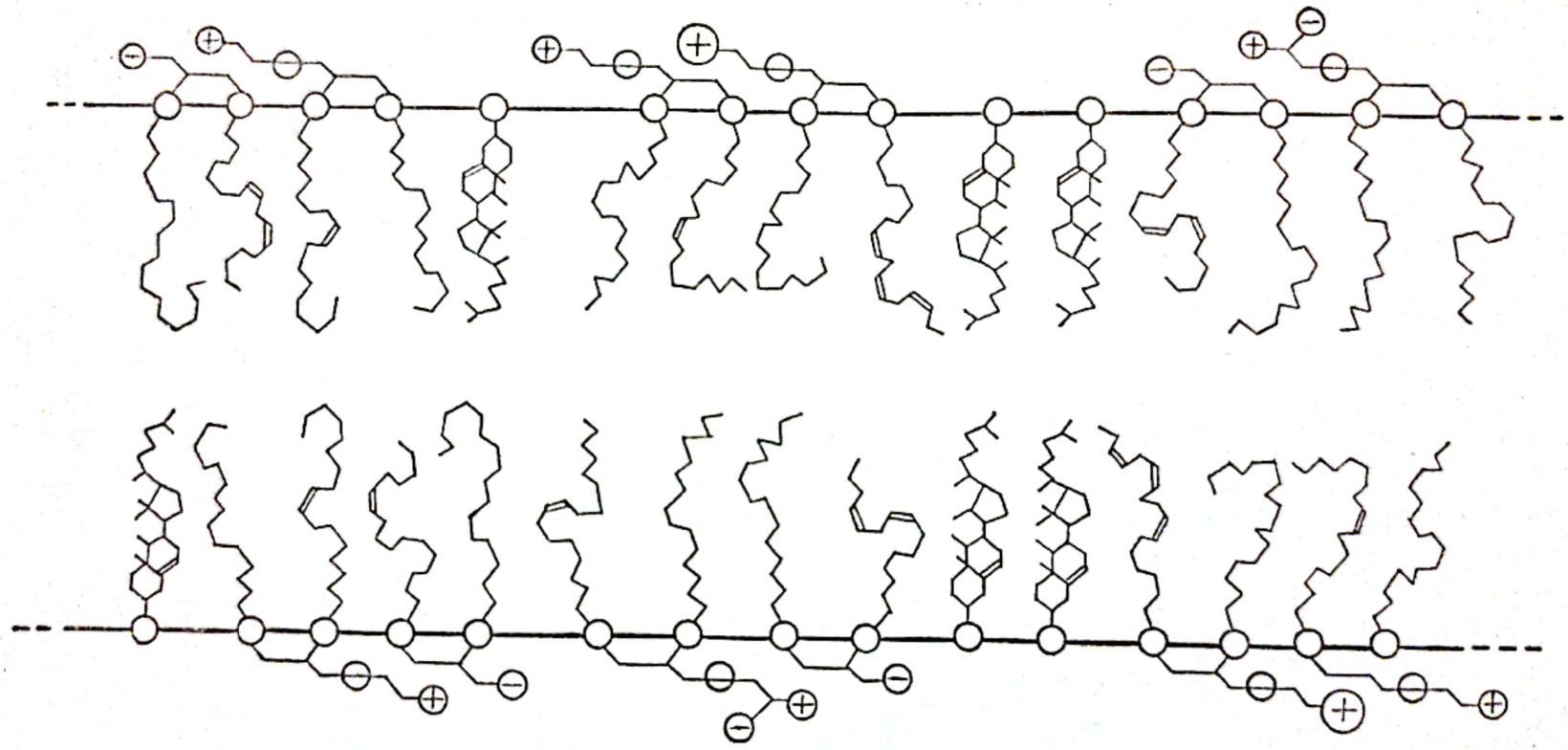
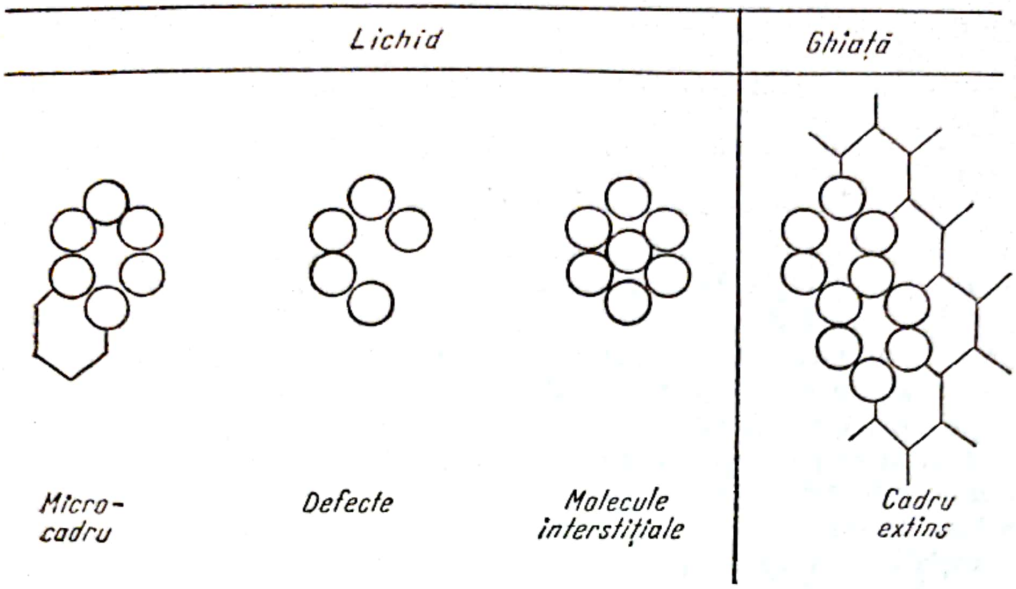


Fig. 7. Schemă a unei porțiuni dintr-un strat bimolecular lipidic.

Scanned with OKEN Scanner



Rig. 8. Reprezentarea schematică a dispunerii moleculelor de apă în cazul stărilor de agregare lichidă şi solidă.

proprietăţile bioelectrice ale structurilor şi organitelor. O discuţie mai amplă în această direcţie se poate găsi în tratările privind membranele, cele care realizează fenomenele denumite de transport activ.

Micromoleculele sînt monomeri din care se constituie macromoleculele, cofactori ai unor enzime sau produşi intermediari în procesele metabolice.

Este important pentru celule şi ţesuturi ca apa ce se află conţinută în ele să aibă o concentraţie molară totală în substanţe şi ioni cît mai stabilă şi să existe de asemenea şi o stabilitate a concentraţiei fiecărei substanţe în parte. Discutarea mecanismelor homeostatice prin care se realizează aceasta iese din cadrul capitolului de faţă. Pentru biologia celulei este însă demn de remarcat faptul că menţinerea constantă a volumului celular se realizează datorită fenomenului de transport activ cu consum de energie a ionilor din membrana plasmatică, în primul rînd prin pomparea sodiului din interiorul celulei în mediu. Fără acest factor, celulele ar tinde să crească dimensional continuu.

COMPORTAREA COLOIDALĂ A SUBSTANŢEI VII

Starea ce caracterizează celula şi ţesutul este cea coloidală. Macromoleculele biologice sînt particule coloide datorită masei lor importante, în genere mult peste 10^4. Ele alcătuiesc mai ales sub formă de complexe o *fază dispersă* aflată într-un *mediu de dispersie* constituit din apă şi substanţe cristaloide solvite. Coloizii biologici prezintă o serie de caracteristici fizice proprii tuturor

coloizilor, cum ar fi difuziunea, mişcarea browniană, fenomenele electrocinetice, deplasarea sub influenţa cîmpurilor pseudogravitaţionale, în ultracentrifuge (caracterizată prin unităţi S — Svedberg — constanta S fiind:

$$S = \frac{dx/dt}{\omega^2 x},$$ dx/dt — viteza de sedimentare şi

$\omega^2 x$ — acceleraţia centrifugală),

dar au şi o serie de proprietăţi care fără a fi propriu-zis specifice sînt mai particulare şi explică în bună măsură comportarea substanţei vii.

Principalele macromolecule biologice, în particular proteinele, acizii nucleici, mucopolizaharidele, au proprietăţile unor coloizi liofili. Liofilia coloizilor reprezintă capacitatea acestora de a se solvata, de a interacţiona cu moleculele de apă, acestea venind să alcătuiască un strat relativ stabil (strat de solvatare) în jurul particulelor. Importanţa liofiliei coloizilor substanţei vii este remarcabilă, întrucît ei pot apărea în soluţii în concentraţii mari şi se prezintă ca suficient de stabili, avînd o relativă inerţie la variaţiile fizice ale mediului (concentraţia electroliţilor, modificarea temperaturii). Capacitatea de asociere amintită în mai multe rînduri are la bază cel puţin în parte caracterul liofil al macromoleculelor.

La coloizii biologici se remarcă două tipuri de fenomene cu deosebite implicaţii pentru viaţă: *tranziţiile sol-gel* şi *coacervarea*.

Un coloid în stare de sol manifestă proprietăţi specifice în genere soluţiilor şi stării de agregare lichidă. Coloizii, în speţă cei biologici, pot trece în stare de gel, caz în care manifestă proprietăţi de solid elastic şi plastic în acelaşi timp. Protoplasma celulelor suferă continuu tranziţii sol-gel (starea de gel fiind predominentă), care sînt fundamentale pentru multe procese celulare, îndeosebi în manifestările cinetice.

Coacervarea apare ca o formă de asociere a coloizilor liofili despre care se presupune că a avut o mare importanţă în procesul apariţiei vieţii.

Scanned with OKEN Scanner

CARACTERE MORFOLOGICE GENERALE ALE CELULELOR

Celulele sînt unităţile morfofuncţionale ale organizării lumii vii, şi deci şi ale corpului omenesc. În alcătuirea celulelor distingem trei părţi componente principale, şi anume *membrana celulară* sau membrana plasmatică, *nucleul şi citoplasma*. (fig. 9).

Obiectul acestui capitol este tocmai studiul structurilor şi ultrastructurilor care intră în alcătuirea celor trei părţi componente ale celulei, precum şi a principalelor procese biologice localizate la nivelul structurilor respective. Înainte de aprofundarea fiecărei părţi componente a celulei, în cele ce urmează vom prezenta cîteva caractere morfologice generale cu privire la forma, dimensiunea, volumului şi numărul celulelor.

Forma celulelor este variabilă şi ea depinde atît de caracterele fizice şi chimice ale mediului în care se găsesc, cît şi de funcţiile şi de raporturile dintre celule. Organismele unicelulare sau celulele aflate în mediul lichid (celulele sîngelui) sînt de obicei de formă rotundă sau ovală. Forma lor poate suferi modificări sub influenţa factorilor interni, intracelulari sau a unor factori extracelulari (prin scăderea tensiunii superficiale a membranei plasmatice). Exemplu: leucocitele sanguine, rotund-ovalare în plasma sanguină, vor prezenta forme diferite, prin emiterea de pseudopode după ce părăsesc vasul şi trec în ţesuturi. În ţesuturi şi organe, celulele realizează contacte strînse între ele, forma lor devine neregulată datorită presiunii reciproce luînd un aspect de poliedru cu 4, 6, 12, 14 laturi. Astfel, în ţesutul epitelial celulele prezintă forme poliedrice, prismatice, piramidale sau în trunchi de con. În epiteliul vezicii urinare, celulele au formă de umbrelă şi de rachetă de tenis.

Celulele cu funcţii foarte diferenţiate, cum sînt cele din ţesutul nervos, iau forme foarte variate, reprezentate prin aspecte stelate, piriforme, multipolare.

Dimensiunile celulelor. Deoarece ele nu sînt vizibile cu ochiul liber, diametrul lor se exprimă în termenii microscopului fotonic în miimi de mili-

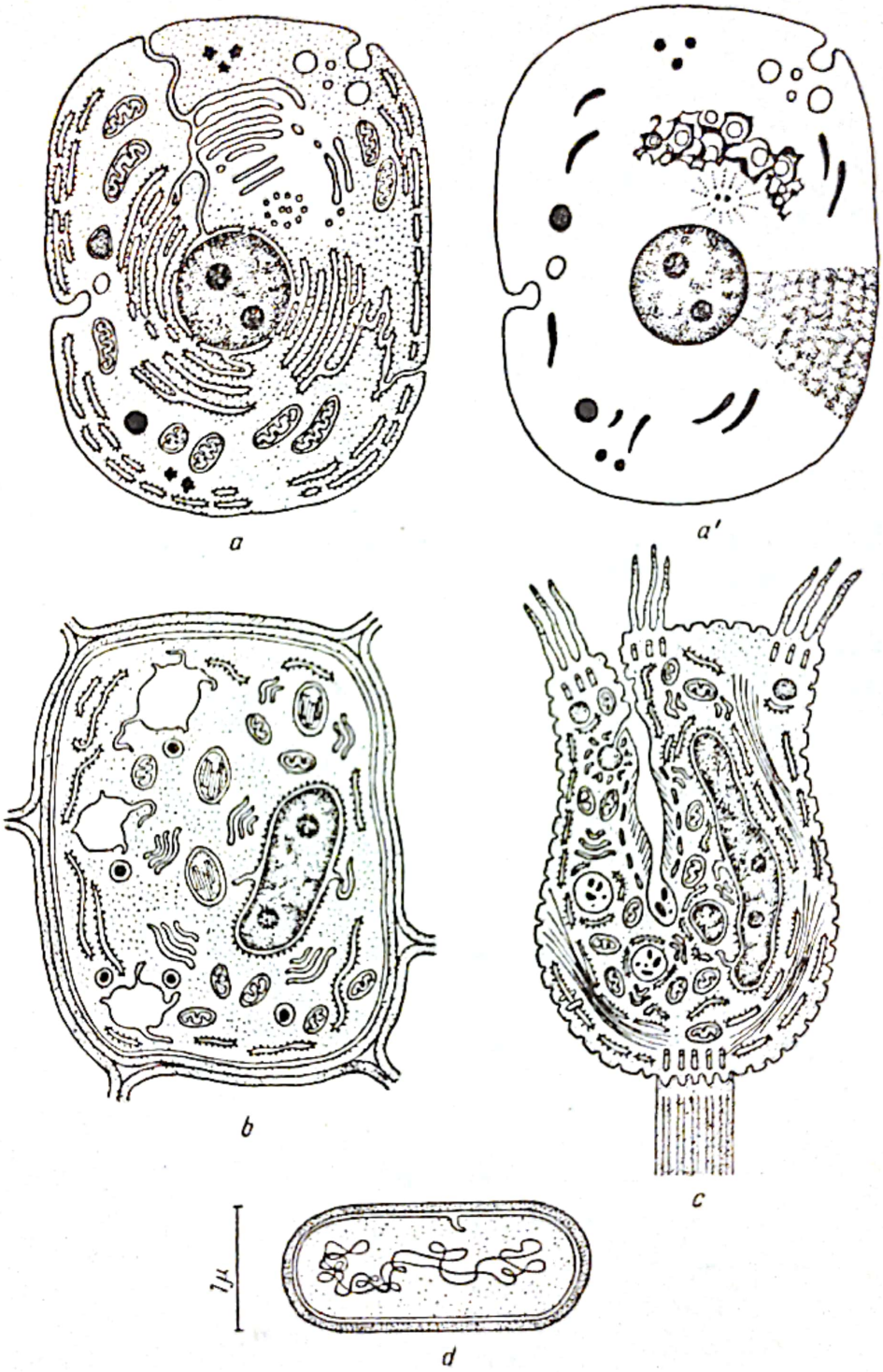


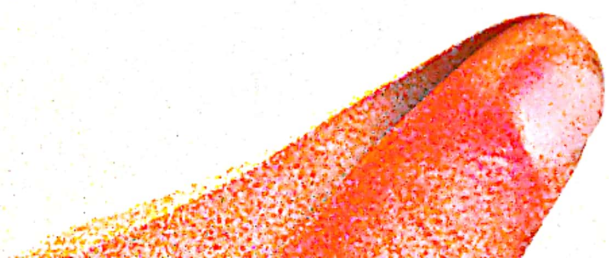
Fig. 9. Diferite tipuri de celule:
a — celula animală M.E.; a' — celula animală M.O.; b — celula vegetală; c — organism unicelular; d — bacterie.

Scanned with OKEN Scanner

metru sau microni şi în termenii microscopului electronic în milionimi de milimetru sau milimicroni şi în zecimi ale acestora din urmă sau angstromi. Diametrul celulelor variază de la cîţiva microni pînă la 100 microni. Există celule a căror talii se situează în afara acestor diametre. De exemplu, ovocitele sau unele celule nervoase pot depăşi 100 microni, în timp ce altele, cum sînt bacteriile, au un diametru ce abia atinge limita vizibilităţii la microscopul optic. În organismul uman, printre cele mai mici celule se situează celulele granulare din cerebel cu un diametru de 3—4 microni şi globulele roşii ale sîngelui cu un diametru de 7,5 microni. Diametrul cel mai des întîlnit la celulele omului se situează de obicei între 10 şi 30 microni. Nu se poate stabili o corelaţie strînsă între mărimea celulei şi greutatea corporală a individului din aceeaşi specie decît numai pentru celulele foarte specializate cum sînt celulele nervoase. Starea fiziologică a organismului respectiv, condiţiile mediului exterior ca şi vîrsta organismului pot modifica talia celulară. Astfel, celulele tinere au un diametru mai mare decît cele îmbătrînite.

Volumul celulelor variază între 200 μ^3 şi 15 000 μ^3. În general, volumul este constant pentru acelaşi tip celular şi este dependent de mărimea organismului. Atît timp cît celula este capabilă să-şi menţină starea de homoestazie, diametrul şi volumul ei nu se modifică. Cînd însă activitatea în celulă se amplifică, cînd se schimbă raportul nucleoplasmatic, volumul şi talia celulară se abat de la constantele obişnuite.

Numărul celulelor este variabil mai ales de la o specie la alta, dar pot exista mici diferenţe numerice şi între indivizii aceleiaşi specii. La cea mai mare parte a organismelor superioare nu se poate vorbi de o constantă numerică absolută. La alte animale însă, cum sînt anelidele şi cîteva insecte, numărul şi distribuirea celulelor nu suferă nici un fel de variabilitate. Diferenţele între masa organului (între greutatea diferitelor organisme) este datorită cantităţii (numărului) de celule şi nu volumului mărit al acestora. La om, numărul de celule care alcătuiesc fiecare organ este deosebit de ridicat; astfel, în creierul uman totalitatea celulelor se ridică la cifra de circa 17 000 000 000, iar globulele roşii ale sîngelui adult sînt în număr de aproximativ 25 000 000 000 000.



Scanned with OKEN Scanner

MEMBRANA CELULARĂ

Celulele sînt delimitate de o formaţiune lipidoproteică, rezultată din condensarea citoplasmei periferice, care desparte protoplasma cu toate componentele ei de mediul înconjurător. Această formaţiune poartă numele de *membrană celulară, membrană plasmatică sau plasmalemă.* Membrana celulară asigură existenţa vieţii celulare, a desfăşurării metabolismului intracitoplasmatic pe baza schimburilor continue de electroliţi, apă şi metaboliţi ce au loc între lichidele extracelulare şi lichidul protoplasmatic. În acelaşi timp ea asigură existenţa organismului însăşi prin proprietatea de adezivitate pe care o are şi care permite celulei respective să se asocieze cu altele şi să organizeze ţesuturile şi organele corpului. Noţiunea de membrană celulară apare la sfîrşitul secolului trecut (1885—1888) în lucrările lui de Vries şi Pfeiffer. Informaţiile date de aceşti autori se refereau numai la membrana celulozică a plantelor, groasă de 0,5 microni, care a putut fi observată cu microscoapele cu putere de mărire redusă, din acea vreme. Această membrană înconjură celula vegetală, dublînd adevărata membrană plasmatică. Plasmalema celulelor animale nu a putut fi observată direct decît la microscopul electronic datorită grosimii ei foarte reduse (cîteva zeci de Å) ce scăpa observaţiilor la microscopul fotonic. Pînă la aplicaţiile microscopului electronic la studiul materiei vii, noţiunile despre membrana celulară se datorau îndeosebi unor cercetări experimentale care ne procurau indicaţii indirecte despre existenţa lor. Astfel, Overton în perioada 1899—1900 dă indicaţii preţioase asupra fenomenului de permeabilitate celulară. El emite ipoteza că plasmalema este alcătuită din substanţe asemănătoare grăsimilor (din lipoizi). Printre lucrările cele mai de seamă în această direcţie se înscriu cercetările lui Danielli (1938—1940), care pe baza a numeroase experienţe emite unele ipoteze privind structura şi funcţionalitatea membranei plasmatice, care şi-au găsit o confirmare deplină prin studiile moderne de microscopie electronică. Astfel, Danielli emite ideea existenţei unui strat lipidic în structura plasmalemei şi alcătuieşte

în acest sens o schemă care a devenit clasică. Schemele moderne de ultrastructură plasmalemală nu sînt altceva decît variante ale schemei lui Danielli. Harvey (1932—1933) cercetează tensiunea de suprafaţă a membranei celulare în diferite condiţii experimentale şi stabileşte existenţa unor variaţii largi tensionale (0,10—35 dine/cm) între plasmalema diferitelor celule. Mai tîrziu, Harvey împreună cu Danielli emit ipoteza alcătuirii membranei celulare din trei straturi: un strat lipidic bimolecular mijlociu, delimitat de două straturi proteice. La aceste importante cercetări s-au adăugat altele care includ nume cunoscute, ca Dziemian (1939, 1942), Schmidt, Bear, Pander (1938), Hodkin (1951, 1958), Eccles (1957), Robertson (1957), Palade (1955), Sjöstrand (1955) şi mulţi alţii care au studiat structura membranelor diferitelor celule (eritrocite, celule nervoase, musculare) sau fenomenul de permeabilitate care caracterizează funcţia de membrană plasmatică. Rezultatele cercetărilor lor au permis alcătuirea unei concepţii moderne asupra structurii şi funţcţiei membranei plasmatice.

MODUL DE ORGANIZARE A MEMBRANEI CELULARE

Microscopia fotonică oferă puţine date despre membrana plasmatică, dat fiind că grosimea ei atinge numai în mod excepţional grosimi de 0,1—0,2 microni. *Microscopia electronică* a reuşit să stabilească cu precizie atît grosimea membranei celulare, dar mai ales componenţa sa ultrastructurală (fig. 10). *Examenul pe membrană izolată* este un procedeu modern încă incomplet pus la punct, care urmăreşte detaşarea membranei plasmatice de restul celulei şi examinarea ei.

În această metodă există însă pericolul ca la unele celule cum ar fi cele musculare, o dată cu izolarea membranei, să rămînă ataşate de aceasta mici fragmente de citoplasmă care pot denatura rezultatele. Există de asemenea pericolul ca membrana celulară o dată detaşată să-şi piardă proprietăţile fiziologice şi să nu mai permită decît descrierea organizării ei ulstrastructurale. Pînă în prezent, eritrocitul este singura celulă la care se poate aplica cu succes procedeul izolării membranei, deoarece plasmalema detaşată păstrează foarte bine forma globulei roşii. Printre alte metode folosite pentru studiul membranei celulare citäm: măsurători electrice ale suprafeţei membranei, antigeni marcaţi, trasori fluorescenţi, analiza biochimică, metode histochimice şi histoenzimologice.

Ultrastructura membranei celulare a fost stabilită pe baza studiilor efectuate la microscopul electronic. Noţiunile achiziţionate au dus la emiterea de către Robertson a *ideii unităţii de structură a membranelor celulare;* acestea au o componenţă *trilaminată* formată dintr-un strat mijlociu, mai puţin dens la fluxul de electroni (strat lipidic), delimitat pe ambele feţe de către două straturi întunecate dense la fluxul de electroni (straturi proteice). Stratul mijlociu este un strat lipidic bimolecular, în care lipidele se privesc prin capetele lor nepolare sau hidrofobe, orientate către centrul membranei

Scanned with OKEN Scanner

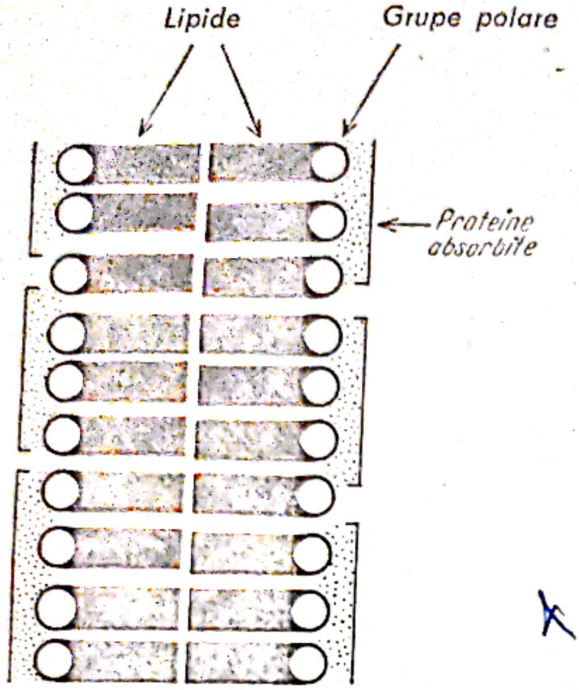


Fig. 10. Structura moleculară a membranei plasmatice.

celulare. Capetele opuse ale lipidelor sînt polare sau hidrofile, stabilind legături cu moleculele proteice învecinate. Moleculele proteice la rîndul lor sînt aşezate cu grupele nepolare către lipide şi cu capetele polare către faţa externă, sau către interiorul celulei, spre citoplasmă.

Unitatea de grosime a membranelor celulare. Robertson a stabilit de asemenea că majoritatea membranelor celulare au aproximativ aceeaşi grosime, şi anume 75—100 Å. Mici variaţii în jurul acestei cifre se întîlnesc la unele celule animale în condiţii speciale datorită unor cauze printre care:

— dimensiunile unuia dintre cele trei straturi componente ale membranei apar mărite. De obicei, straturile proteice sînt cel mai des supuse variabilităţii. Aceasta se realizează fie pentru amîndouă, în acelaşi timp, fie pentru unul singur (stratul extern mai subţire, cel intern mai gros, sau viceversa);

— adăugirea de noi straturi, la membrana plasmatică existentă, prin suprapuneri regulate de straturi proteice şi lipidice. Acest aspect se poate observa la tipul particular de membrană celulară care este reprezentat de teaca de mielină a nervului periferic. Pe secţiune transversală, această membrană apare formată din benzi clare ce alternează cu altele întunecate. Banda clară din mijloc este străbătută la rîndul ei de o lamă fină densă la fluxul de electronic. Această structură se repetă la interval de 120 Å, realizînd la nivelul tecii de mielină o periodicitate caracteristică. Un alt aspect particular pentru membrana celulară se poate observa la celulele vizuale din retină (celule cu conuri şi bastonaşe). Articolul extern al acestor celule este format din discuri suprapuse în mod asemănător cu pilele electrice, fiind determinate de invaginările repetate în mod regulat ale membranei celulare.

Cercetări recente aduc în discuţie ideea *subunităţilor de membrană* (Fernandez — Moran, 1961, şi Sjöstrand, 1963). Aceşti autori au arătat că anumite citomembrane în special în membrana mitocondrială prezintă subunităţi structurale de aspect globulos pe care le-au numit particule elementare. Se discută posibilitatea existenţei unor astfel de subunităţi ultrastructurale şi la nivelul membranelor celulare. Părerile continuă să fie încă contradictorii în jurul noţiunii subunităţii de membrană.

Componenta chimică a membranei celulare este reprezentată în proporţia cea mai mare printr-o fracţiune lipidică, urmată de o fracţiune proteică şi de o foarte mică fracţiune glucidică.

Scanned with OKEN Scanner

Lipidele sînt reprezentate prin fosfolipide şi colesterol în proporţii ce variază de la o celulă la alta, cu predominenţa unuia sau altuia din cele două componente. În general, în majoritatea membranelor celulare, proporţiile acestora sînt de 60—65% fosfolipide şi 20—25% colesterol. În unele membrane sînt semnalate şi trigliceride în proporţii de 4%. Din categoria fosfolipidelor în plasmalemă se găsesc în concentraţie descrescîndă următorii compuşi: fosfatidil colina 28%, fosfatidil etanolamina, fosfatidil serina, sfingomielina 15%, fosfatidil inotizol etc. Colesterolul se găseşte sub formă liberă sau sub formă esterificată. Cantitatea de acizi graşi din lipidele membranei (oleic, stearic, palmitic, linoleic) variază în raport cu specia, cu indivizii din cadrul aceleiaşi specii şi cu vîrsta. Un exemplu în acest sens este dat de eritrocit în cazul în care se modifică dieta alimentară. Astfel, la animalele care primesc o alimentaţie bogată în acid linoleic sau oleic, cantitatea acestor acizi graşi creşte o dată cu modificarea proporţiei lor în membrana globulului roşu. Ei revin la cifrele normale la scurt timp după încetarea regimului respectiv şi reluarea hranei obişnuite. În membranele celulare, lipidele realizează între ele două feluri de legături; a) lipide unite între ele printr-o legătură laxă ce permite un schimb foarte viu între celulă şi mediul extracelular. Este legătura cea mai des întîlnită la nivelul plasmalemei şi aparţine în general lipidelor solubile în eter; b) legături puternice între moleculele lipidice, mai rar întîlnite în membrana plasmatică. Din această categorie fac parte lipidele solubile în alcool-eter.

Proteinele. Cunoştinţele referitoare la componenta proteică a membranei celulare sînt mult mai reduse, aceşti compuşi fiind mai puţin cercetaţi. Studii efectuate în special pe membrana globulului roşu au stabilit prezenţa a cel puţin două proteine la acest nivel: somatotropina şi cledina fără să se poată spune însă dacă se găsesc şi la nivelul altor celule. În orice caz, componenta proteică este foarte deosebită de la o celulă la alta. Mai mult chiar, s-a constatat că foiţa proteică externă a membranei celulare poate în multe cazuri conţine alte proteine decît foiţa proteică internă.

Glucidele sînt întotdeauna legate de lipide, cu care formează un complex glicolipidic. Cercetătorii japonezi care s-au ocupat în special de această problemă au arătat că complexul glicolipidic variază mult în raport cu specia. La om, în componenta glucidică se află glucozamina, iar acidul sialic este absent; la cal nu se găsesc decît urme de glucozamină şi o cantitate crescută de acid sialic, iar, la bovidee glucozamina şi acidul sialic se găsesc în proporţii egale.

Stratul mucopolizaharidic al membranei celulare. Cele mai multe celule din organism prezintă la suprafaţa externă a membranei celulare un strat gros de polizaharide. Substanţele mucopolizaharide din acest strat sînt aşezate de obicei în afara stratului proteic extern al plasmalemei cu care formează combinaţii chimice la suprafaţa celulei sub formă de glicoproteine sau mucoproteine. Se realizează de obicei o legătură amidă între grupa amino din proteină şi o grupare carboxilic acidă a mucopolizaharidului. Unii autori denumesc stratul extracelular bogat în carbohidraţi cu numele de *glicocalix* (fig. 11). La microscopul electronic el se prezintă sub formă de filamente lungi de ordinul angstromilor aşezate în formă de reţea. Glicocalixul este mai dezvoltat la polul apical şi bazal al unor celule din intestinul subţire, din tubul contort proximal şi mai redus în interfeţele de contact.

Scanned with OKEN Scanner

Fig. 11. Glicocalix.

Caracterele fizice ale membranei celulare sînt dominate de două elemente: a) *Încărcătura electrică.* Cele mai multe vii prezintă la suprafaţa celulei o încărcătură electrică negativă, ceea ce face ca atunci cînd sînt puse într-o soluţie prin care trece un curent electric să se îndrepte către anod. Unele celule ca protozoarele sau spirochetele migrează la catod, indicînd astfel că posedă la suprafaţa membranei o încărcătură pozitivă. Încărcătura electrică a membranei celulare este determinată de straturile proteice din plasmalemă. Dacă stratul proteic extern are de obicei încărcătura negativă, stratul proteic intern de cele mai multe ori posedă o încărcătură electrică de sens contrar. În acest fel, faţa internă a membranei are un potenţial electric pozitiv. b) *Tensiunea de suprafaţă* este întotdeauna mai scăzută decît 2 dine/cm şi pentru foarte multe celule mai mică de 0,2, dine/cm. Aceste cifre demonstrează că membrana celulară este foarte elastică, proprietate ce este datorită în special straturilor proteice ce intră în structura ei.

Componenta enzimatică. Membranele celulare în totalitate sau numai pe anumite porţiuni ale lor sînt sediul unor bogate activităţi enzimatice. La nivelul lor sînt localizate: adenozintrifosfataza (ATP-aza), 5-nucleotidaza, fosfataza alcalină, arisulfataza, ribonucleaza alcalină. S-a constatat că aproape toate celulele din organism prezintă la nivelul membranei celulare în grade diferite o activitate pentru fosfataza alcalină. În mod special ea este prezentă la nivelul unor celule cu funcţie resorbtivă, cum ar fi enterocitele (intestinale) şi nefrocitele (din rinichi), unde este localizată pe membrana polului apical, polul cel mai solicitat. Deoarece nu toată membrana celulară prezintă acelaşi grad sau acelaşi echipament enzimatic, se vorbeşte de zone active sau de zone inactive ale membranei celulare.

DIFERENŢIERI STRUCTURALE ALE SUPRAFEŢEI CELULARE

Vălurile şi membranele ondulate sînt prelungiri ale celulei cu o lungime de aproximativ 0,05—0,2 microni. Ele sînt delimitate de membrana plasmatică a celulei respective. Conţinutul lor citoplasmatic este omogen, fără organite celulare. Mecanismul lor de formare sau de retragere încă incomplet explicat presupune fie modificări ale tensiunii de suprafaţă într-un anumit punct al membranei sub influenţa unor variate condiţii externe, fie modificarea condiţiilor fizico-chimice interne, care determină o creştere a presiunii intracitoplasmatice. Vălurile şi membranele ondulante se întîlnesc în special la celulele mobile de tipul histiocitului şi al macrofagelor.

Fig. 12. Leucocit prezentînd pseudopode.

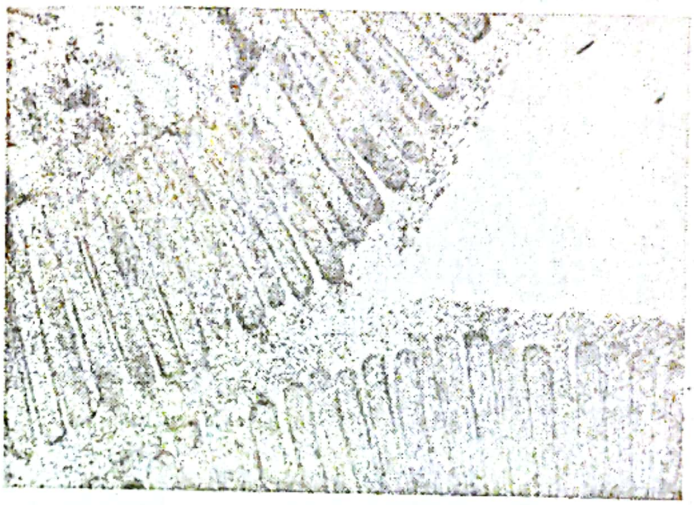


Fig. 13. Microvili şi glicocalix.

Pseudopodele sînt prelungiri ale citoplasmei delimitate de plasmalemă de forme diferite după tipul de celulă şi mediul în care aceasta se găseşte. De obicei în formă de deget sau de conuri, ele se modifică foarte repede, dispar şi pot reapărea în alt punct al celulei. Aceste formaţiuni se întîlnesc în special la celulele cu funcţie pronunţată de fagocitoză (leucocite, histiocite) (fig. 12).

Microvilii se întîlnesc la foarte multe celule ale organismului. Ei se prezintă sub formă de prelungiri în formă de deget de mănuşă, cu o grosime de 100—500 Å şi o lungime de 0,05—0,1 microni şi sînt constituiţi dintr-o prelungire a citoplasmei (fig. 13), înconjurată la periferie de o porţiune a plasmalemei celulare. Microvilii au putut fi studiaţi încă la microscopul fotonic şi au fost observaţi la polul apical al unor celule din tubul urinar şi epiteliul intestinal, acest pol primind denumirea de *margine în perie*. Prezenţa lor favorizează funcţia acestor celule mărind suprafaţa de contact, ceea ce permite efectuarea unor schimburi mai largi între celulă şi mediul înconjurător. Microvilii sînt acoperiţi de glicocalixul mucopolizaharidic extracelular, care la acest nivel constituie un strat mai gros decît în restul plasmalemei şi se insinuează în depresiunile dintre această plasmalemă. Microvilii pot prezenta grosimi şi înălţimi egale la aceeaşi celulă (enterocit) sau dimensiuni frapant inegale (nefrocit).

Cilii şi flagelii sînt prelungiri citoplasmatice cu o structură şi ultrastructură caracteristică. La baza fiecărui cil se găseşte un corpuscul bazal care are structura unui centriol şi asigură motilitatea respectivă. Microscopul electronic a arătat că fiecare cil are o structură individuală, fiind delimitat de prelungirea membranei celulare şi că este format din două filamente centrale înconjurate de

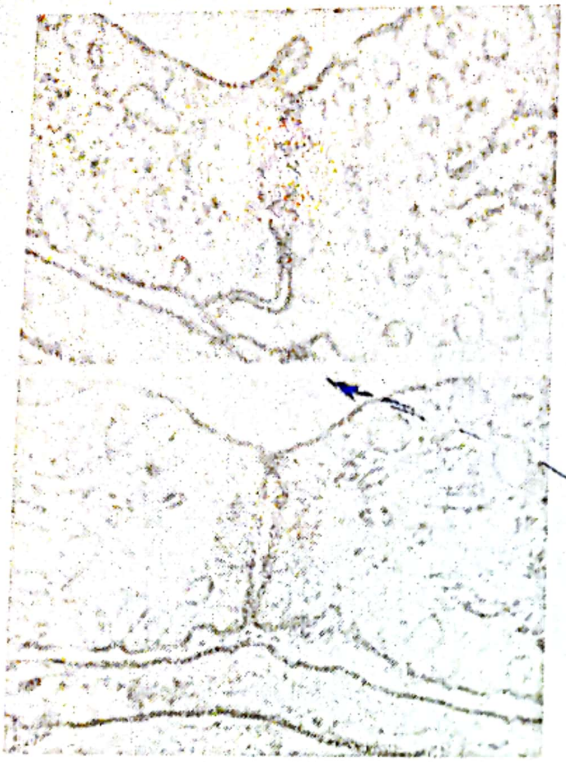


Fig. 14. Desmozomi.

9 perechi de filamente aşezate în cerc la jumătatea distanţei dintre filamentele gemene axiale şi membrana celulară.

Joncţiunile celulare. La locul de contact dintre două celule, membranele celulare respective sînt separate între ele printr-un spaţiu intercelular de aproximativ 150—260Å. Feţele de contact ale celor două plasmaleme pot prezenta diferenţieri locale care sînt considerate ca zone specializate ale membranei celulare în vederea realizării adezivităţii celulare. Aceste diferenţieri au primit denumirea de *desmozomi* (fig. 14); ei sînt aproape întotdeauna perechi şi aparţin citoplasmei alăturate plasmalemei. Desmozomii reprezintă o condensare a ectoplasmei în zona de contact, sub formă de benzi citoplasmatice radiare ce converg către membrana celulară. În dreptul desmozomilor, membranele celulare au întotdeauna un traiect drept. În afara porţiunilor joncţionale desmozomale, membranele celulare au un traiect sinuos, ondulat, spaţiul dintre ele fiind mai mare decît la nivelul joncţiunii drepte. Pentru unele celule (epiteliale, endoteliale) sînt descrise trei sectoare ce compun complexul joncţional. *Zona occludens,* partea cea mai îngustă a joncţiunii interepiteliale în care membranele celulare pot să fuzioneze puternic, situată spre frontul apical al celulei. În continuarea zonei occludens (spre frontul bazal al celulei) se întîlneşte sectorul intermediar ce constituie *zona adherens,* cu membranele celulare mai distanţate între ele pînă la 200 Å. Cel de-al treilea segment este constituit din *macula adherens* sau joncţiunea *desmozomică.* La acest nivel, membranele celulare apar şi mai îndepărtate (250 Å) şi sînt prevăzute cu acele formaţiuni

perechi dense la fluxul de electroni, care au primit denumirea de *desmozomi*. Un tip special de joncţiune celulară este realizat de sinapsa nervoasă şi de discul intercalar din structura miocardului.

FUNCŢIILE MEMBRANEI CELULARE

Permeabilitatea şi funcţia de transport. Membrana celulară funcţionează ca o membrană semipermeabilă care permite mişcarea continuă a unor compuşi moleculari către interiorul celulei sau din celulă către mediul înconjurător. Datorită structurii macromoleculare caracteristice membranei celulare, fenomenul de permeabilitate care asigură transportul biologic este supus legilor difuziunii şi osmozei. Permeabilitatea membranei celulare este condiţionată de diametrul moleculelor de gradientul de concentraţie, de atracţia electrică a ionilor de pe cele două feţe ale membranei celulare, de presiunea osmotică, factori ce realizează în totalitate *gradientul electrochimic*. În momentul în care transportul prin membrana celulară se efectuează sub valorile gradientului electrochimic, se vorbeşte de *transportul pasiv*. Transportul biologic prin membrană este pasiv cînd forţele de transfer depind de factorul de concentraţie. Acest transport se realizează prin mişcări de difuziune şi osmoză care tind să restabilească concentraţia din cele două compartimente despărţite de membrană. Cînd însă transportul prin membrana celulară are loc împotriva gradientului electrochimic, deci împotriva direcţiei naturale de difuziune, această acţiune poartă ţiune denumirea de *transport activ* şi reprezintă forma de transfer, caracteristică membranei celulare. Transportul activ presupune trecerea prin membrana celulară a moleculelor cu diametru mic ca apa, diferiţi ioni şi unii electroliţi. Transportul activ biologic implică utilizarea de energie celulară pentru ca moleculele să treacă prin membrană. Energia se realizează prin eliberarea fosfatului din ATP sub acţiunea ATP-azei, prin reacţiile oxido-reductorii, prin diferenţele de potenţial electric şi prin forţele contractile ale unor molecule proteice. În ultima vreme se vorbeşte de intervenţia în transportul activ a unui sistem enzimatic transportor, denumit sistemul permeazelor, descris pînă în prezent în membrana bacteriilor, care ar putea constitui un transport specific pentru unele molecule ce urmează să fie vehiculate dintr-o parte în alta a plasmalemei.

Transportul apei. Membranele celulei animale sînt în general foarte permeabile pentru apă; datorită acestui fapt, precum şi datorită dimensiunilor mici ale moleculelor, gradientele apei între citoplasmă şi lichidul extracelular sînt repede echilibrate (în mai puţin de o secundă pentru cele mai multe celule). De obicei, cantitatea de apă ce pătrunde în celulă este de valori egale cu cea care trece în mediul extracelular. Apa traversează membrana plasmatică mult mai repede decît ionii. Transferul se face după legile osmozei, plasmalema reprezentînd

Scanned with OKEN Scanner

caracteristicile unei membrane permeabile (pentru apă) şi a unei membrane selective (numai pentru unii solvenţi) (fig. 15).

Caracteristic pentru celulele animale şi vegetale este inegalitatea concentraţiei de ioni din celulă şi din mediul extracelular. Astfel, protoplasma conţine concentraţii mai mari de potasiu, magneziu, calciu şi fosfor, în timp ce mediul extracelular este mai bogat în sodiu, clor. Membranele celulelor animale nu au permeabilitatea selectivă faţă de ioni. Ele sînt permeabile faţă de toţi cationii şi anionii minerali. Mişcarea ionilor prin membrana celulară este determinată de *gradientul de concentraţie* (care reprezintă diferenţa de concentraţie de substanţă între cele două compartimente celulare separate de membrană), *de solubilitatea ionilor în lipide*, de *mărimea ionului respectiv;* (potasiul se mişcă mai repede prin membrana celulară decît sodiul, pentru că diametrul moleculei ionului potasic este mult mai mic decît al ionului sodic) şi de *încărcătura electrică* (cu cît încărcătura electrică este mai mare, cu atît este mai slabă trecerea prin membrane). De aceea, ionii monovalenţi care sînt şi cei mai importanţi pentru schimburile celulare traversează cel mai repede membrana celulară. Dintre aceştia, Na^+ şi K^+ se găsesc în cantitatea cea mai mare în organism, fiind repartizaţi inegal între cele două compartimente. Na^+ se află în cantitate mai mare în mediul extracelular, K^+ este predominent în mediul intracelular. Concentraţia lor poate fi exprimată în milimoli (mM %) sau în miliechivalenţi (m Eg%). Astfel, sodiul se găseşte în afara celulei în proporţie de aproximativ 144 mEg%, în timp ce în mediul intracelular numai în proporţie de 4—6 m Eg%, iar potasiul este în concentraţie de 110 m Eg% în interiorul celulei şi de 5 m Eg% în mediul extracelular. Această inegalitate ionică de la nivelul celulei nu poate fi explicată numai prin efectul echilibrului Donnan, ci trebuie luat în discuţie existenţa unui proces activ celular. Trecerea sodiului în afara celulei prin membrana plasmatică împotriva unei concentraţii mari în mediul extern, deci împotriva gradientului de concentraţie, se realizează printr-un sistem activ ce poartă denumirea de „pompă activă de sodiu", care necesită un mare consum de energie. Această energie este furnizată de intervenţia adenozintrifosfatazei, enzimă localizată pe membrană, capabilă să declanşeze energia necesară transferului activ. Controlul circulaţiei prin membrane este efectuat direct de unii hormoni, ca aldosteronul, şi indirect de hormonul antidiuretic din hipofiză; scăderile sau creşterile bruşte

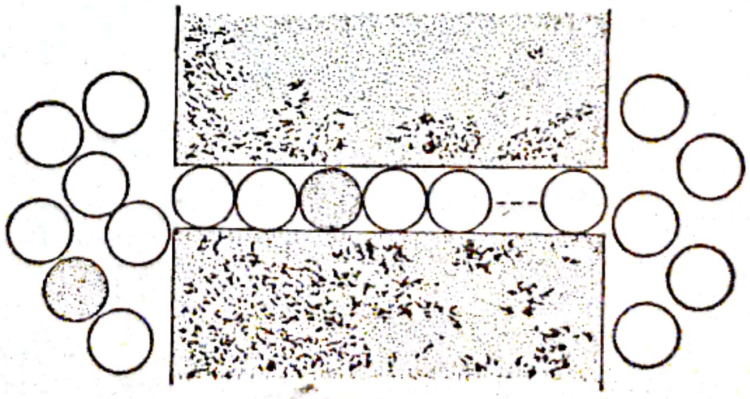


Fig. 15. Transportul apei prin membrana celulară (după Lea).

Scanned with OKEN Scanner

ale natremiei se compensează prin mişcări hidrice foarte vii între cele două compartimente celulare. Astfel, o hiponatremie va duce la o hiperhidratare celulară, în timp ce o hipernatremie va provoca o dezhidratare a celulei. Existenţa unei pompe active pentru potasiu sau pentru ceilalţi ioni este discutată fără a putea fi încă dovedită pe deplin; cunoştinţele asupra mecanismului prin care aceşti ioni traversează membrana celulară sînt încă foarte puţine şi de domeniul ipotezelor. Metabolismul intra- şi extracelular al potasiului este reglat de asemenea pe cale hormonală de către hormonii glucocorticoizi şi aldosteron. La nivelul celulei vii este menţinută în permanenţă o diferenţă a concentraţiei ionice, sodice şi potasice între mediul intracelular şi cel extracelular. În unele condiţii fiziologice însă, ca în cazul propagării fluxului nervos. există o mişcare rapidă a sodiului către interiorul fibrei şi celulei nervoase şi a potasiului citoplasmatic către mediul extracelular. O dată terminată trecerea impulsului nervos, excesul intracitoplasmic de sodiu este trecut în afara celulei, iar potasiul extracelular reintră în celulă restabilind diferenţa ionică normal întîlnită în celula vie. Unele molecule mici ca monozaharidele, cîţiva aminoacizi sau acizii graşi pot străbate membrana celulară. Această trecere reprezintă un transport activ care depinde în special de concentraţia acestor produşi în mediul extracelular.

În concluzie, se poate spune că la nivelul membranei celulare are loc un transport activ pentru cele mai multe substanţe cu moleculă de diametru mic. Acest transport activ presupune traversarea membranei celulare împotriva gradientului electrochimic. Mecanismul transportului activ în mare parte elucidat prezintă multe aspecte necunoscute ce necesită încă investigaţii. Permeabilitatea celulară este un fenomen fiziologic strîns legat de metabolismul celulei respective. Datorită acestui fenomen sînt păstrate condiţiile de viaţă ale citoplasmei şi buna desfăşurare a multiplelor activităţi enzimatice celulare. Permeabilitatea celulară este alterată de unele substanţe, printre care narcoticele care scad sensibilitatea membranei plasmatice, de unele condiţii de mediu ca temperatura (cu cît este mai ridicată cu atît măreşte viteza de transport), pH-ul, perturbările concentraţiei ionice etc.

Fagocitoza, pinocitoza, micropinocitoza reprezintă căi pentru transportul moleculelor mari prin membrana celulară. La suprafaţa celulelor au loc anumite fenomene de captare şi înglobare în corpul celulei a unor particule (microbi, lichid, macromolecule) din mediul înconjurător. Aceste fenomene au putut fi puse în evidenţă cu ajutorul microscopiei fotonice şi electronice care a surprins pe suprafaţa celulelor procese de penetraţie intracelulară. De asemenea s-a putut observa că atît celulele animale (P a l a d e, S j ö s t r a n d, P o l i c a r d, şi B e s s i s), cît şi cele vegetale (B u v a t) au o suprafaţă cutată şi că membrana plasmatică prezintă numeroase invaginaţii. Aceste invaginaţii reuşesc să izoleze şi să introducă în citoplasmă substanţele existente în mediul înconjurător. Procesele celulare de înglobare pot fi împărţite în trei categorii: fagocitoza, pinocitoza şi micropinocitoza, cu unele trăsături comune, cum ar fi; plisarea (cutarea stratului superficial al celulei), formarea unei depresiuni la suprafaţa celulei cu închiderea sa ulterioară. Se formează astfel o vacuolă

care, împreună cu conţinutul său, este adusă în citoplasmă de către mişcările acesteia.

Fagocitoza este un fenomen cunoscut de mai mult timp şi studiat în mod deosebit de Mecinikoff pe leucocite. Fagocitoza nu constituie numai un fenomen de nutriţie pentru celule, ci şi un fenomen foarte important în apărarea organismului prin înglobarea şi distrugerea microorganismului patogen. Pînă la studierea acestui fenomen cu mijloacele moderne de microscopie electronică s-a crezut că fogocitoza este un fenomen propriu unor anumite tipuri de celule (leucocite). Studiile de ultrastructură au arătat că acest fenomen este foarte general şi aparţine unui mare număr de celule din organism. Celulele înzestrate cu proprietatea de fagocitoză prezintă mişcări asemănătoare vieţuitoarelor inferioare de tipul amibei, de unde şi denumirea dată de mişcări amiboidale deplasărilor şi modificărilor acestor celule. Procesul de fagocitoză se desfăşoară în trei faze succesive.

— Prima fază, numită şi *fază de ataşare*, în care particulele exterioare sînt acoperite şi captate prin pseudopodele emise de celula respectivă. Această ataşare depinde de gradul de viscozitate a celulei fagocitante şi de tensiunea ei superficială. Este evident că ataşarea se produce cu atît mai uşor cu cît tensiunea superficială este mai mică. Procesul de fagocitoză este facilitat prin depozitarea pe particula de fagocitat a unei substanţe care are rol de intermediar, numită opsonină.

— După ataşare urmează *faza de înglobare sau faza reologică* a fagocitozei. Particula captată este învăluită de către membrana celulară şi stratul superficial al citoplasmei (ectoplasmă) şi apoi antrenată în masa celulei prin curenţii citoplasmatici. Prin învăluirea particulei se formează vacuola de fagocitoză, care nu conţine enzime, fapt ce a determinat pe De Duve să-i dea denumirea de *fagozomi*.

— Faza a treia o constituie *faza de digestie*, în care lizozomii din citoplasmă bogaţi în hidrolaze acide se unesc cu fagozomul într-o singură vacuolă, numită vacuolă digestivă (la capitolul consacrat lizozomilor se vor da amănunte asupra ultimelor două faze). În funcţie de vitalitatea celulelor fagocitante şi de natura particulelor ingerate, ingestia poate duce fie la moartea celulei fagocitante, fie la conservarea vitalităţii ei. În cazul în care particulele înglobate sînt microorganisme, în vacuolele de fagocitoză apare fagocitina (care le distruge) şi hidrolaze acide cu acţiune litică. Cînd digestia este terminată, produşii utili trec în citoplasmă, iar deşeurile sînt eliminate la exterior. În funcţie de tipul particulelor ingerate, celulele care posedă proprietatea de fagocitoză se împart în: *microfage*, celule care atacă în special bacterii şi *macrofage*, celule care atacă corpuri mai voluminoase (celule întregi).

Pinocitoza. Din punctul de vedere al mecanismului de acţiune, pinocitoza este foarte asemănătoare cu fagocitoza; singura deosebire este dată de faptul că particulele înglobate sînt mult mai mici şi sînt reprezentate în special prin picături de lichid. Astfel privit, procesul de pinocitoză îl putem numi microfagocitoză. Formarea vacuolelor este determinată de numeroasele cute existente pe suprafaţa celulelor. Datorită mişcărilor continue ale acestor falduri se produce coalescenţa vîrfurilor care înglobează astfel picătura de lichid

Scanned with OKEN Scanner

din mediul înconjurător. În cazul unor celule plate de tipul celulelor endoteliale, formarea vacuolei poate fi dată de curbarea unui singur fald marginal. Imediat după formare, vacuola este deplasată spre interiorul celulei, astfel încît faldurile de la extremitatea celulei se eliberează şi sînt gata să formeze noi vacuole (fig. 16, 18).

Rofeocitoza sau micropinocitoza se referă la fenomenul înglobării de particule solide inframicroscopice. Acest lucru se observă bine la endoteliul capilarului, în ale cărui celule apar numeroase invaginaţii mici ale membranei celulare atît la suprafaţa apicală cît şi la cea bazală (fig. 17).

Adeziunea celulară. După gradul lor de mobilitate, celulele din organism pot fi împărţite în două categorii. Unele sînt mobile capabile de deplasare, iau contact pasager şi de scurtă durată cu alte celule — celule mezenchimale, sanguine şi limfatice. Altele sînt fixe, aderă între ele foarte strîns şi formează masive celulare organizate — glande, muchi, diverse organe. Acestea din urmă nu sînt capabile de deplasare, însă prezintă mişcări interne foarte active determinate de curenţii citoplasmatici.

Deşi capacitatea de mişcare a *celulelor mobile* este cunoscută de mult timp, mecanismul deplasării lor nu este deplin elucidat. Un lucru esenţial îl constituie faptul că o celulă mobilă nu se poate deplasa decît pe un suport solid de care ea aderă în mod provizoriu. În suspensia liberă într-un lichid ele iau o formă sferică datorită tensiunii superficiale a membranei. Aceasta prezintă la suprafaţa celulei prelungiri inframicroscopice cărora li se atribuie două funcţii. Astfel, unii autori (C u r r a n şi K l a r k, 1964) consideră că ele ar reprezenta mij-

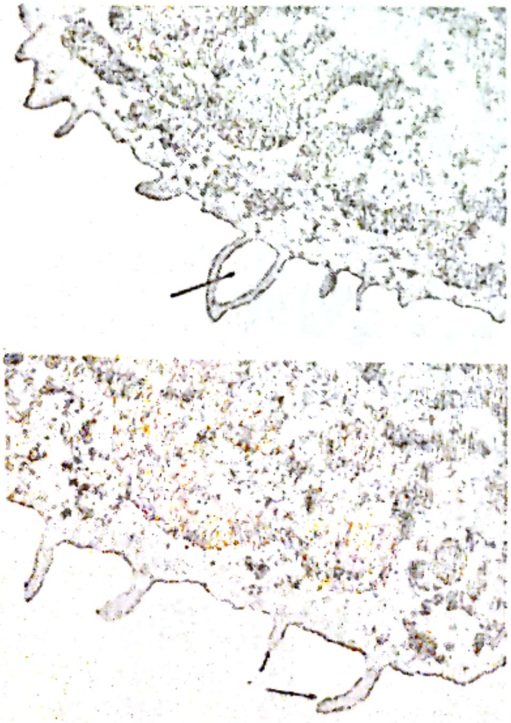


Fig. 16 formarea vacuolelor de pinocitoză.

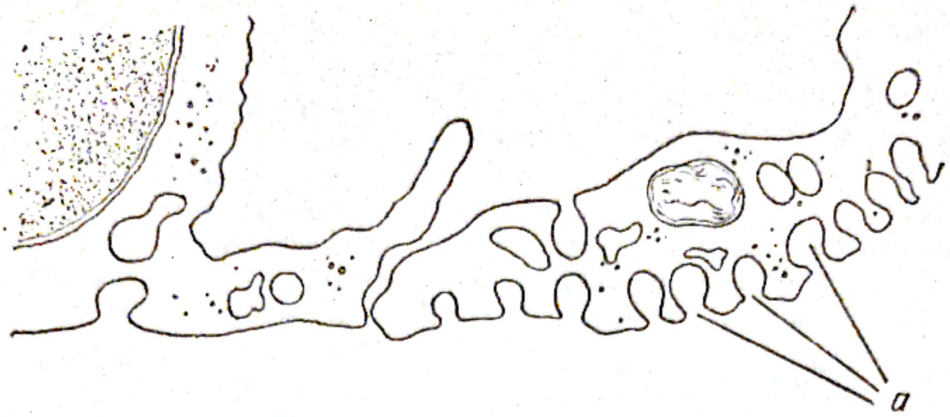


Fig. 17. Procesul de micropinocitoză:
a — Vezicule de micropinocitoză.

loace de ataşare a celulelor pe anumite suprafeţe in vitro sau in vivo. Alţi autori (Taylor şi Robins) consideră că aceste microcrampoane au in vivo proprietatea de a mobiliza celula şi a căuta suprafeţele faţă de celulele respective cu o afinitate deosebită. În acest caz, legătura se realizează prin forţe interfaciale. *Celulele fixe* prezintă numai mişcări interne, fără ca acestea să ducă la deplasarea lor. În cadrul agregatului celular pe care îl formează, celulele fixe nu fuzionează niciodată între ele, încît din punct de vedere morfologic sînt întotdeauna individualizate. Ele sînt însă într-un contact permanent cu celulele învecinate cu care realizează o interdependenţă funcţională. Rezultă deci că pentru a constitui organe este necesar ca celulele să stabilească contacte strînse unele cu celelalte, să adere între ele. O problemă de o mare importanţă biologică o constituie cunoaşterea mecanismului adeziunii celulare, ca şi rolul ei în fiziologie şi patologie. Formarea agregatelor se produce după anumite legi, care urmăresc ca celulele care stabilesc contacte între ele să fie de acelaşi tip (celulele ficatului se asociază numai cu celule hepatice, cele de rinichi numai cu celule renale etc.), ceea ce demonstrează că procesul de formare a agregatelor celulare este un proces selectiv.

Mecanismul adeziunii celulare. După cum se ştie, membrana plasmatică este formată din lanţuri bimoleculare lipidice sau fosfatidice, aşezate perpendicular pe suprafaţa celulei. De o parte şi de alta a acestui rînd sînt dispuse două straturi de macromolecule proteice liniare sau globulare, aşezate tangenţial în raport cu suprafaţa celulară. Din aceste două straturi, cel care joacă un rol, deosebit în adeziunea celulară, este stratul exterior. Acest strat este destul de subţire, dar cu o constituţie complexă; lanţurile complexe cele mai interne orientate tangenţial şi cu molecule distribuite ordonat faţă de lanţurile lipidice se modifică spre exterior, moleculele prezentînd o aşezare din ce în ce mai dezordonată, constituind astfel un *microînveliş*. Microinvelişul intervine activ în funcţia celulară, determinînd fenomenul de adeziune celulară. În această zonă, viscozitatea este variabilă, depinzînd de constituţia chimică a straturilor respective, de dispoziţia moleculelor, de forţele care acţionează la nivelul suprafeţelor celulelor, ca şi de mişcările protoplasmei. În mod special, mişcările protoplasmei

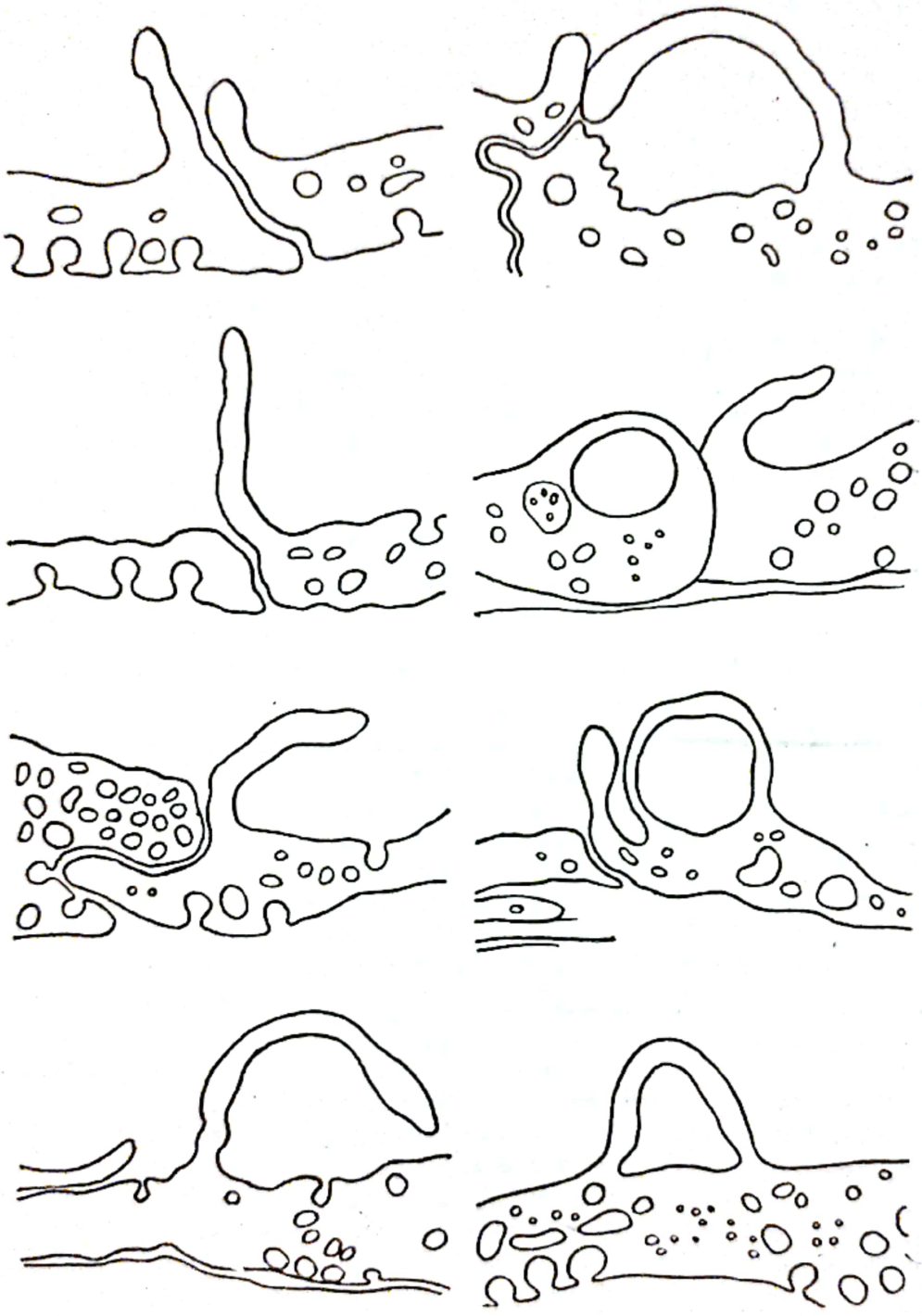


Fig. 18. Modurile de înglobare a picăturilor de lichid de către faldurile marginale ale celulelor endoteliale.

Scanned with OKEN Scanner

cresc viscozitatea modificînd astfel modul de grupare al macromoleculelor. Cîteva teorii încearcă să explice mecanismele adeziunii celulare, fără să poată explica cu precizie care este factorul determinant al acestui fenomen:

Teoria substanței cimentante. Conform acestei teorii, aderențele intercelulare s-ar datora prezenței unei substanțe cimentate între membranele celulelor ce vin în contact. Teoria se bazează pe faptul că pe suprafața celulelor și în spațiul intercelular se găsește un material PAS pozitiv. Acest material reprezintă glicocalixul situat între suprafețele de contact. Prezența lui poate explica numai în parte fenomenul de aderare.

Teoria fizică. Explicarea adezivității celulare cu ajutorul factorilor fizici este mai aproape de realitate și vine să completeze în mod fericit teoria substanței cimentante. Factorii fizici care intervin în acest proces sînt reprezentați prin sarcinile electrice ale plasmalemei și prin forțele de coeziune Van der Waals. După cum se știe, în condiții fiziologice normale majoritatea celulelor poartă la suprafață sarcini electrice negative, datorite în cea mai mare parte acizilor aminați din macromoleculele proteice. Fiind toate încărcate electronegativ, adică cu electricitate de același semn, celulele tind să se respingă reciproc. Forța de repulsie dintre celule este proporțională cu sarcina lor electrică. În același timp, între celule se dezvoltă și forțele care realizează coeziunea lor. Acestea sînt forțele Van der Waals. Totalul forțelor repulsive și atractive cunoscut sub numele de forțe London stau la baza procesului de adeziune celulară. Rezultă deci că interdependența dintre celule se datorește jocului a două forțe contrarii: forțe electrostatice repulsive și forțe de atracție Van der Waals — London.

Teoria chimică. S-a observat că fermenții proteolitici (tripsina) în cantități mici pot provoca cu ușurință dezagregarea unor masive celulare cu modificarea adezivității, ceea ce arată posibilitatea existenței unor legături chimice care să permită adeziunea celulară. Un exemplu de legătură chimică îl constituie legăturile de hidrogen (Bourne, Gh. Danielli, J. F., 1960), care se formează atunci cînd hidrogenul atașat la un atom puternic electronegativ este atras de un alt atom puternic electronegativ. Asemenea legături apar la proteine și peptine; ele se realizează la distanțe relativ mici de 2,4—3,2 Å.

S-a dovedit că în realizarea adezivității un rol important îl joacă *ionul de calciu.* Absența sau scăderea conținutului ionilor de calciu din zona intercelulară ca și din mediul respectiv duce la perturbarea adezivității celulare. Acest fapt a fost observat foarte bine în dezvoltarea oului de metazoare. Absența calciului din mediul de creștere a dus la dispersia blastomerului și la imposibilitatea formării embrionului. Mecanismul prin care calciul intervine în fenomenul de adezivitate celulară este încă insuficient cunoscut. Se consideră totuși că grupele complexe de macromolecule proteice de pe suprafața celulelor au proprietatea de a fixa acest ion de calciu, precum și alți cationi bivalenți.

Scanned with OKEN Scanner

NUCLEUL

ORGANIZARE GENERALĂ

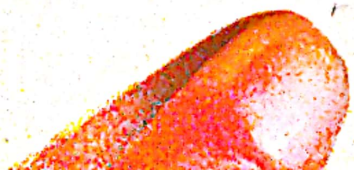
Nucleul este o parte constitutivă principală a tuturor tipurilor de celule care intră în alcătuirea corpului omenesc, cu rolul de a coordona procesele biologice celulare fundamentale.

Pe parcursul desfăşurării ciclului vital al unei celule, materialul nuclear se prezintă sub două aspecte diferite: a) sub forma unui organit cu o structură complexă — *în intercineză* — pentru a putea îndeplini rolul de coordonator al proceselor biologice celulare şi îndeosebi al funcţiei de coordonator al sintezei proteinelor, precum şi pentru a putea efectua duplicarea materialului genetic în vederea înmulţirii celulare; b) sub forma unor corpusculi în număr şi de forme caracteristice cu specia, a cromozomilor — *în timpul diviziunii celulare* — pentru a asigura repartiţia egală a materialului genetic în celulele-fiice.

Menţionăm că celulele care compun lumea vie pot fi împărţite în două grupe, în funcţie de complexitatea materialului lor nuclear: *protocariote*, celule care au un material nuclear dispersat în masa celulară, (bacteriile saprofite şi algele albastre), şi *eucariote*, celule al căror nucleu formează un organit celular de sine stătător, cu o organizare complexă, pe care îl întîlnim la majoritatea celulelor vegetale şi animale, inclusiv la om.

Cunoştinţele actuale despre nucleu s-au format ca urmare a eforturilor susţinute în domeniul morfologiei, biochimiei citogeneticii, precum şi a biologiei moleculare.

Primele observaţii sînt legate de *morfologia* nucleului. Descris pentru prima oară în 1831 de către Brown sub forma unei vezicule clare observate în celula de orhidee, nucleul a fost considerat foarte curînd un component ubicuitar prezent atît în celulele vegetale, cît şi în celulele animale. După o atentă observaţie a nucleului, în 1858, Virchow a extins doctrina sa *omnis cellula e cellula* la *omnis nucleus e nucleo*. În 1882, Flemming şi Strassburger au descris metamorfoza nucleului în timpul diviziunii celulare şi au arătat că din substanţa nucleului în timpul cinezei iau naştere corpusculi denşi şi



intens coloraţi. Waldeyer (1890) a denumit aceşti corpusculi cromozomi. Tot acestui autor îi revine meritul de a fi arătat că în cursul diviziunii celulare cromozomii se împart în mod egal între celulele-fiice. Microscopia electronică a confirmat în bună parte cunoştinţele vechilor citologi asupra structurii nucleului şi totodată a lărgit aceste noţiuni, reuşind să descrie ultrastructurile care participă la îndeplinirea funcţiilor lui esenţiale, care anterior erau doar bănuite.

Aprofundarea cunoştinţelor asupra nucleului nu a fost posibilă însă fără cunoaşterea *organizării lui chimice*. Progresul în această direcţie se datoreşte cercetărilor preliminare ale lui Miescher (1869) care a izolat din puroi o substanţă pe care a denumit-o acid timonucleic (ADN), bogată în azot şi fosfor, şi a sugerat că ea este localizată în nucleul leucocitelor. Ulterior, metode histochimice pentru detectarea acizilor nucleici bazate pe reacţia de culoare a lui Feulgen şi Rosenbeck (1924) au demonstrat că ADN este un component specific nuclear. Aceste date au fost întărite de cercetările biochimice ale lui Behrens (1932), care, separînd din celulă fracţiunea citoplasmatică de cea nucleară, precizează că ADN este localizat exclusiv la nivelul nucleului. Ulterior, Caspersson şi Brachet (1939, 1941), perfecţionînd metodele histochimice de evidenţiere a acizilor nucleici în celulă, au reuşit să deosebească cele două tipuri de acizi nucleici (citoplasmatici şi nucleari) şi să dea primele indicaţii asupra interrelaţiilor dintre ei. Boivin şi colaboratorii (1948) şi Vendrely (1948) au arătat *stabilitatea cantitativă a ADN, observaţie de importanţă capitală în înţelegerea activităţii biologice a acestuia*. Caspersson în aceeaşi perioadă, a pus bazele citofotometriei cantitative. Înzestrarea tehnicii histochimice cu cea a histoautoradiografiei a permis în continuare observaţii mai largi asupra proceselor dinamice ale acizilor nucleici la nivel subcelular, deschizînd noi perspective în acest domeniu.

O altă direcţie de cercetare a fost cea privind rolul nucleului în transmiterea caracterelor ereditare ale celulelor — *citogenetică*. Printre precursorii acestei direcţii trebuie considerat Haechel (1866), care afirmă că nucleul este elementul fundamental al eredităţii, idee reluată mai tîrziu de Flemming (1875), care sugerează că nu atît nucleul, cît cromozomii sînt suportul material al eredităţii. În 1884, Rable arată că fiecare specie are un număr invariabil de cromozomi. La începutul secolului nostru, Clung (1902) descoperă cromozomii de sex, iar Johansen (1903) fundamentează teoria genetică, definind noţiunea de genotip ce se referă la totalitatea masei ereditare şi cea de fenotip care cuprinde ansamblul trăsăturilor exterioare. În 1910, Morgan emite teoria cromozomială a eredităţii, arătînd că genele sînt dispuse liniar pe cromozomi şi că fiecare cromozom conţine un grup anumit de gene. Cercetările în această direcţie culminează cu descoperirea rolului genetic al ADN de către Avery, McLeod şi McCarty (1944). În 1956, Tjio şi Levan stabilesc cariotipul uman şi precizează că omul are 46 de cromozomi, iar în 1959. Lejeune demonstrează că anomaliile cromozomiale sînt factori importanţi care pot declanşa sindroame anatomoclinice bine definite în patologia umană.

În ultimii ani s-au dezvoltat foarte rapid cercetările privitoare la *biologia moleculelor* care intră în alcătuirea nucleului. În această direcţie este concen-

trată atenţia morfologilor (prin utilizarea microscoapelor electronice de foarte mare putere de rezoluţie), a citochimiştilor (prin perfecţionarea metodelor citofotometrice, de citochimie aplicată la microscopul electronic, a metodelor de fracţionare celulară şi a metodelor de ultraanaliză chimică) şi a biofizicienilor (prin studierea organizării macromoleculelor). Această nouă etapă s-a afirmat o dată cu lucrările lui Watson şi Crick (1953), care, stabilind structura macromoleculară a ADN, au oferit o bază principială pentru explicarea rolului acestuia în ereditate. Cercetările ulterioare asupra biologiei macromoleculelor de ARN au condus la clarificarea rolului nucleului în coordonarea sintezei proteinelor.

CARACTERE MORFOLOGICE GENERALE ALE NUCLEULUI ÎN INTERFAZĂ

Structura generală a nucleului poate fi studiată atît pe celula vie, cît şi pe celule fixate şi colorate.

La microscopul fotonic, *nucleii celulelor vii* apar de cele mai multe ori optic omogeni, limitaţi de o peliculă fină ceva mai refringentă — *membrana nucleară* — care delimitează conţinutul nuclear — *nucleoplasma.* În nucleoplasmă se remarcă unul sau doi corpusculi cu contur rotund sau adesea neregulat, deosebit de refringenţi — *nucleolii.* Folosind dispozitive microscopice speciale ca cel cu contrast de fază, în nucleoplasmă, pe lîngă nucleoli, se pot distinge numeroase filamente sau granule foarte fine, mai refringente decît fondul, care în ansamblu constituie un reticul mai mult sau mai puţin dens. Cînd celula se pregăteşte de diviziune sau în timpul diviziunii, filamentele din nucleu se îngroaşă şi se organizează în corpusculi refringenţi bine individualizaţi, *cromozomii.* Ei au fost observaţi şi în intercineză la unele tipuri de celule (celulele glandelor salivare de *Drosophila*).

Microcinematografierea celulelor vii şi în special a celulelor cultivate in vitro a permis urmărirea nucleului în contextul dinamismului celular, remarcîndu-se că ansamblul nuclear efectuează mişcări în interiorul citoplasmei; dintre acestea, cele mai importante sînt mişcările de rotaţie ale nucleului care se repetă periodic într-un sens sau altul. Aceste mişcări au o viteză variabilă. O rotire completă poate dura de la cîteva secunde, la cîteva minute. Ele au ca substrat raportul strîns care există între nucleu şi reticulul endoplasmatic; cînd reticulul endoplasmatic este deplasat prin mişcări proprii ale citoplasmei, mişcările lui antrenează nucleul. În afară de acest tip de mişcare, nucleul mai poate fi împins spre membrana celulară, sau în cazul în care este degenerat, poate fi expulzat în afara celulei.

Studiul celulelor nefixate şi necolorate nu permite sesizarea structurii fine nucleare, de aceea atenţia morfologilor a fost îndreptată asupra observării *nucleului pe celule fixate şi colorate.*

Nucleul celulei în intercineză, în cazul celulelor fixate şi colorate, se caracterizează printr-o complexitate structurală care variază în funcţie de fixatorul fo-

Scanned with OKEN Scanner

losit şi de tipul de celulă. După fixare şi colorare se disting clar la nivelul nucleului structurile abia vizibile pe celula vie, şi anume: o *membrană nucleară*, care apare ca o linie ce separă net conţinutul nuclear de cel citoplasmatic; *carioplasma* formată dintr-o masă necolorată sau foarte slab bazofilă — sucul nuclear — şi din granule cu afinitate crescută pentru coloranţii bazici, care au fost denumite în mod generic *de cromatină*. În carioplasmă se pot observa unul sau mai mulţi corpusculi sferoidali sau ovoizi, puternic coloraţi cu coloranţii nucleari — *nucleolii*. În timpul diviziunii celulare, aspectul nucleului se modifică, din cromatina nucleară organizîndu-se *cromozomii*. După aspectul observat la microscopul fotonic cu tehnici uzuale de fixare şi colorare, nuclei în intercine au fost împărţiţi în trei tipuri:

— *nuclei dispersaţi* sau *cromidiali*, formaţi din mase mici de cromatină, risipite în citoplasmă şi lipsite de membrană (protocariote);

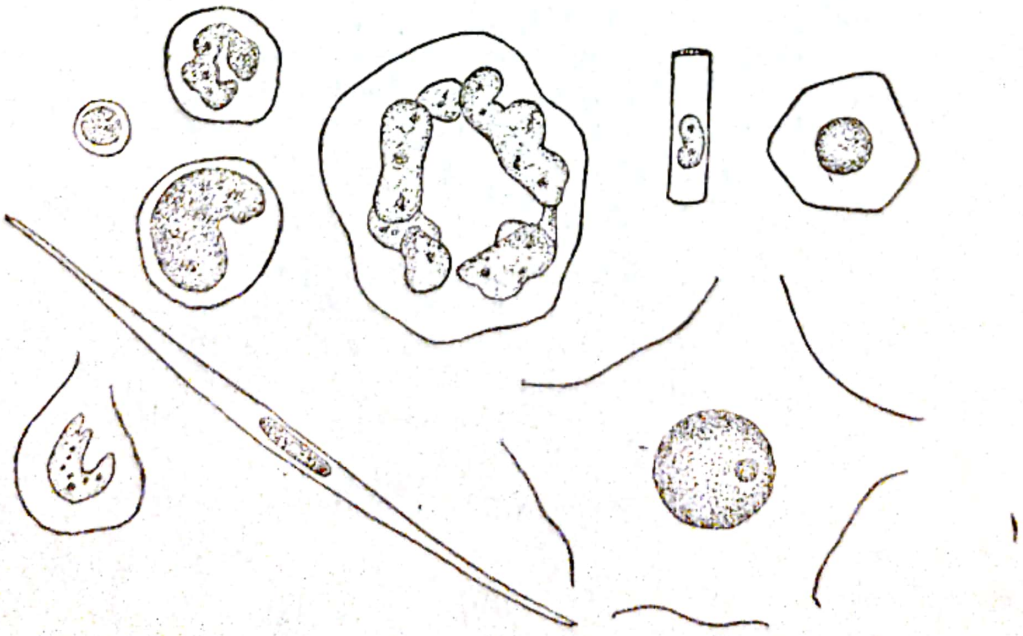
— *nuclei intens cromatici*, de obicei de talie mică, la care, din cauza intensităţii de colorare a masei nucleare, detaliile de structură a carioplasmei, nucleolii şi membrana nu se pot observa (de exemplu, spermatozoidul);

— *nuclei cu aspect clar*, veziculoşi de obicei mari, întîlniţi la majoritatea celulelor somatice; la aceşti nuclei pot fi studiate în condiţiile cele mai bune toate componentele care intră în structura nucleului.

Forma nucleului urmăreşte de obicei forma celulei (fig. 19). În celulele izodiametrice (rotunde, cubice, poliedrice), nucleul este globulos; în celulele alungite, el are o formă ovalară sau de bastonaş (fibre musculare netede) (fig. 19).

Nucleul este un organit moale şi plastic, care se deformează uşor sub influenţa presiunilor exercitate de alte organite celulare (centrosfera), de mişcările interne ale citoplasmei (răsucirea nucleului la fibra musculară în timpul contracţiei) şi de acumularea unor incluzii citoplasmatice (nucleu turtit la ce-

Fig. 19. Forme de nuclei.



Scanned with OKEN Scanner

lulele adipoase sau mucoase). Uneori, modificările de formă ale nucleului pot fi datorate unor schimbări metabolice celulare. Aşa este cazul celulelor secretorii ale viermelui-de-mătase, al căror nucleu este rotunjit în timpul inactivităţii, pentru ca în timpul secreţiei celulare să prezinte înfundări sub formă de canalicule intranucleare. Modificări în forma nucleului se înregistrează şi în timpul activităţii granulocitelor. Celulele îmbătrînite prezintă şi ele neregularităţi de formă, ce se produc prin micşorarea volumului nuclear şi zbîrcirea membranei sale.

Nucleul ocupă de obicei *poziţia centrală* în celulă, însă poate fi deplasat de mişcările citoplasmatice, de curenţii generaţi în activitatea metabolică sau de modificările de densitate ale citoplasmei în diferite regiuni ale celulei. Celulele care acumulează anumite produse în citoplasmă prezintă un nucleu excentric (celule adipoase, celule cu mucus); la celulele secretorii, deplasarea nucleului se face întotdeauna în partea opusă locului de acumulare şi eliminare a produselor de secreţie. Sub raport funcţional, el se plasează în regiunea citoplasmatică caracterizată prin cel mai intens metabolism. Cînd nucleul este polarizat, el se situează în apropierea sursei de oxigen sau de substanţe nutritive (vase, celule nutritive).

Dimensiunile nucleului, obţinute prin tehnici de cariometrie, indică o scară largă de valori cuprinse între 4 şi 200 microni. Aceste diferenţe sînt de regulă în raport direct cu mărimea celulei. Nucleul spermatozoizilor are diametrul cel mai mic (4 microni), iar nucleul ovulei are diametrul cel mai mare (200 microni).

Volumul variază de la cîteva zeci la 2000 microni cubi. În celulele cu funcţii similare există doi factori care controlează volumul nucleului şi anume: raportul nucleoplamatic şi activitatea funcţională a nucleului.

Raportul nucleoplasmatic (N/P) implică o relaţie între volumul nucleului şi citoplasmă, de aşa natură încît dacă unul se schimbă, atrage după sine şi modificarea celuilalt. El poate fi exprimat numeric prin aşa-numitul **index nucleo-citoplasmatic:**

$NP = \frac{V_n}{V_c - V_n}$. în care V_n = volumul nuclear; V_c = volumul celulei. Dacă volumul celulei creşte mai mult decît volumul nucleului, raportul N/P va fi refăcut fie printr-o diviziune a celulei, fie printr-o creştere a volumului nuclear, însoţită uneori de o schimbare a formei sale. Dacă raportul nu poate fi refăcut, funcţia celulei suferă modificări uneori ireversibile.

Activitatea funcţională a nucleului influenţează şi ea volumul nuclear. S-a arătat în acest sens că aceleaşi celule pot prezenta nuclei mai mici sau mai mari, în legătură directă cu starea de activitate a lor. De exemplu, celulele tiroidiene, după hipofizectomie, prezintă nuclei mici, iar după stimularea glandei, ei cresc ca volum. Modificările de volum. ale nucleului sînt însoţite de modificări morfologice şi sînt dependente de forma de prezentare a cromatinei nucleare. Dispersarea cromatinei este însoţită de o creştere a volumului nuclear şi caracterizează nucleii funcţional activi, în timp ce condensarea ei este urmată de o reducere a volumului nuclear şi caracterizează nucleii inactivi. O reducere a volumului nuclear prin condensarea cromatinei apare şi odată cu îmbătrînirea

celulelor, ducînd la apariţia nucleilor picnotici. Dispersarea şi condensarea cromatinei sînt direct influenţate de presiunea osmotică şi concentraţia cationilor, deci sub acest aspect, volumul nuclear este dependent de mişcările apei şi electroliţilor prin membrana nucleară, care stau la baza stimulării sau inhibării activităţii funcţionale a nucleului.

În afară de modificările care privesc dispoziţia cromatinei în reţea laxă sau condensată, nucleul poate să prezinte un volum mare, ca urmare a creşterii masei dezoxiribonucleoproteinelor (DNP). În timp ce modificările de dispoziţie a cromatinei sînt reversibile, creşterea DNP este însoţită de fenomenul de *poliploidie* sau *politenie* (v. Cromozomii) şi nu poate fi compensat decît prin diviziunea nucleului, urmată sau nu de diviziunea celulară.

Volumul nucleului poate varia şi ca urmare a unui fenomen de contracţie sau de umflare a lui datorită acţiunii unor factori exogeni (temperatura scăzută creşte volumul nucleului).

În general, celulele prezintă un singur nucleu, dar există şi cazuri în care ele pot prezenta doi sau chiar mai mulţi nuclei. Se cunosc celule multinucleate, la care în mod normal numărul nucleilor poate ajunge la cîteva zeci (megacariocitele din măduva osoasă). În unele stări patologice se întîlnesc de asemenea celule la care numărul nucleilor creşte considerabil (celule canceroase).

Variaţiile de număr sînt atribuite în general unei activităţi metabolice crescute a celulei. La nevoie, materialul genetic celular răspunde cerinţelor metabolismului în afară de poliploidie sau politenie şi prin multinuclearitate. La unele protozoare, care în mod obişnuit prezintă doi nuclei, un micronucleu şi un macronucleu, primul este specializat pentru funcţia metabolică şi ultimul pentru funcţia genetică.

Viscozitatea nucleului variază în funcţie de tipul de celulă şi în funcţie de momentul ei fiziologic. Viscozitatea nucleului este asemănătoare cu cea a apei, mai mică decît a citoplasmei, fapt care explică revărsarea conţinutului nuclear în momentul rupturii membranei nucleare. Există şi excepţii, de exemplu, ovocitele care au viscozitatea nucleului crescută considerabil faţă de cea a citoplasmei înconjurătoare.

Greutatea specifică a nucleului este mare. Cea mai mare greutate o are nucleolul, apoi cromatina şi cea mai mică sucul nuclear. Greutatea specifică variază considerabil în funcţie de starea fiziologică a celulei şi mai ales în funcţie de conţinutul în apă.

Sarcina electrică. Membrana nucleară este încărcată pozitiv, nucleolul şi cromozomii au o sarcină negativă. Sarcina electrică negativă a componenţilor masei nucleare se datoreşte nucleoproteinelor, amfoliţi care se încarcă negativ în mediul alcalin al nucleului (pH 7,4—7,8).

ORGANIZAREA CHIMICĂ GENERALĂ A NUCLEULUI

Organizarea chimică a nucleului se studiază fie prin analiza microchimică sau ultrachimică — metode biochimice — a nucleilor izolaţi sau a fracţiunilor nucleare (obţinute prin ultracentrifugare diferenţiată), fie prin metode citochi-

mice, prin care se urmăreşte stabilirea intracelulară şi caracterele chimice ale diferitelor structuri şi ultrastructuri care intră în alcătuirea nucleului.

Studiile biochimice sau citochimice au arătat că nucleul se compune din: acizi nucleici, proteine, lipide, substanţe minerale şi apă.

Acizii nucleici. La nivelul nucleului au fost evidenţiate ambele tipuri de acizi nucleici, atît acid dezoxiribonucleic (ADN), cît şi acid ribonucleic (ARN). Prezenţa lor este responsabilă de bazofilia nucleului. ADN este localizat în special în cromatină, în timp ce ARN este localizat cu precădere în nucleol. Localizarea intracelulară a acizilor nucleici se face prin metode histochimice ale căror principii se bazează pe faptul că acizii nucleici sînt macromolecule înalt polimerizate, care rămîn în nucleu după fixare, secţionare şi colorare. Dintre metodele histochimice de detectare a acizilor nucleici, cele mai uzuale sînt metoda F e u l g e n care evidenţiază ADN la nivelul cromatinei (în violet) şi amestecul *verde-metil şi pironinâ* (colorează în verde ADN şi în roşu ARN), care evidenţiază ADN în cromatină şi ARN în nucleol.

Acizii nucleici absorb lumina ultravioletă la banda de 2 600 Å. Procedura de detectare a lor după acest criteriu nu permite însă separarea ADN de ARN. Metoda este făcută specifică pentru ADN sau ARN prin asocierea testelor de digestie enzimatică (DN-aza sau RN-aza care digeră specific ADN sau ARN). După digestia ADN cu DN-ază, s-a putut observa că ARN este localizat cu precădere în nucleol, dar că el se află într-o cantitate mică şi în carioplasmă. După digestia ARN cu RN-ază, ADN apare localizat în carioplasmă, mai precis în cromatină şi, în cantităţi mici, în nucleol.

Acidul dezoxiribonucleic este un macropolimer a cărui structură chimică şi stereochimică a fost prezentată într-un capitol anterior. Are o greutate moleculară de cîteva milioane (10×10^6) şi se prezintă sub forma de fibrile care izolate din cromatină au o birefringenţă negativă şi un diametru de 20 Å. Încercările de a calcula cantitatea de ADN determinată prin metode biochimice au relatat că la om nucleii celulelor somatice care au două seturi de cromozomi (nuclei diploizi) conţin aproximativ 7×10^{-12} g ADN. În acelaşi timp, celulele germinale care au un singur set de cromozomi (nuclei haploizi) conţin jumătate din această cantitate ($3{,}5 \times 10^{-12}$ g). De aici s-a tras concluzia că există o legătură directă între cantitatea de ADN şi numărul cromozomilor. În unele ţesuturi ale aceluiaşi organism există nuclei care conţin o cantitate de 2 ori sau de 4 ori mai mare de ADN decît nucleii diploizi. Această duplicare sau cvadruplicare a conţinutului ADN este asociată cu *poliploidia*, cu creşterea dimensiunii cromozomilor aşa cum se întîmplă în cazul *politeniei* sau cu creşterea numărului lor — *multinuclearitate*.

În ciuda faptului că cele mai multe date din literatură atestă stabilitatea cantitativă a ADN, sau (în cazul creşterii cantităţii lui) o corelare directă între cantitatea de ADN şi ploidie, în ultimii ani, prin tehnici de citochimie, s-a demonstrat existenţa unei cantităţi de ADN extracromozomial observat în special la celulele cu intensă activitate morfogenetică (celule embrionare, celule aflate în regenerare şi celulele tumorale). Există deci dovezi că conţinutul în ADN poate prezenta variaţii în legătură cu activitatea metabolică a celulei. Întrucît ADN este considerat material genetic — şi în această postură este greu de admis ca

Scanned with OKEN Scanner

materialul ereditar să prezinte variaţii — s-a emis o ipoteză după care ar exista două tipuri de ADN: unul *stabil* cu funcţie genetică şi unul *labil* cu funcţie metabolică. În această ipoteză, ADN metabolic ar fi sintetizat numai cînd celula are nevoie de o intensificare a informaţiei genetice, el fiind o copie a ADN genetic.

Acidul ribonucleic este prezent în nucleu sub cele trei forme: ARN-ribozomal, ARN-solubil şi ARN-mesager.

ARN-ribozomal este reprezentat prin lanţuri poliribonucleotidice de lungimi diferite, care au putut fi izolate prin ultracentrifugare diferenţiată. Se disting sub acest raport două tipuri de ARN-ribozomal: unul format din lanţuri poliribonucleotidice mai lungi, care sedimentează la 28 S, şi altul cu ribonucleotide mai puţine, care sedimentează la 16 S. Ambele forme de ARN-ribozomal se cuplează cu proteine în complexe ribonucleoproteice şi intră în structura celor două subunităţi ale ribozomilor. În nucleu, ARN ribozomal este localizat cu precădere în nucleol. O mică parte se găseşte şi în carioplasmă.

ARN solubil, numit şi „de transfer", este alcătuit din lanţuri poliribonucleotidice scurte (circa 70 nucleotide), care au un indice de sedimentare de 4 S. Nu formează complexe cu proteinele şi se găseşte localizat în nucleol şi sucul nuclear.

ARN mesager are un coeficient de sedimentare extrem de variabil („polidispers"), sugerînd o heterogenitate de lungime a lanţurilor poliribonucleotidice. Harris (1968) arată că valorile diferite obţinute după sedimentare par să nu fie reale şi consideră că lungimea moleculelor de ARN-mesager este egală cu cea a ARN-ribozomal de 16 S, sugerînd că ARN-mesager „polidispers" ar fi un precursor al acestuia. Ca şi ARN-ribozomal şi ARN-mesager ar forma complexe cu anumite tipuri de proteine şi se organizează în particule ribonucleoproteice denumite „informozomi" (Spirin, 1964). În nucleu, ARN-mesager este localizat în cromatină.

Proteinele carioplasmei sînt de două tipuri: bazice şi acide.

Proteinele bazice sînt localizate în cromatină, întotdeauna asociate în complexe ionice cu ADN. Din grupul proteinelor bazice fac parte histonele şi protaminele.

Histonele au greutate moleculară relativ mică (12 000), sînt bogate în arginină, lizină, histidină.

Conţinînd un număr mare de catene laterale bazice (arginină, lizină) purtătoare de sarcini libere pozitive, histonele sînt capabile să neutralizeze sarcinile libere negative reprezentate de grupările fosfatice ale ADN. Prin acest efect, ele sînt implicate în inactivarea anumitor segmente ale ADN.

După conţinutul în aminoacizi, deosebim *histone* în care predomină *arginina* şi *histone* în care predomină *lizina*. În organism, nucleii diferitelor ţesuturi prezintă o compoziţie caracteristică pentru tipul de ţesut sau, aşa cum indică unele probe în anumite stări funcţionale, predomină un tip sau altul de histone. Histonele fiind alcătuite, aşa cum am văzut, dintr-o populaţie heterogenă de molecule, în relaţiile dintre ele şi ADN la nivelul complexului ADN-histone, variaţiile de dispoziţie şi cantitate ale diferitelor molecule pot avea importanţă

considerabilă. În dezvoltarea ontogenetică, ele par să fie implicate în procesele de diferenţiere celulară.

Leslie (1961) artă că histonele prezintă activitate ribonucleazică, iar Alfrey (1963) precizează că histonele bogate în arginină inhibă ARN-nucleotid-transferaza, enzimă care catalizează sinteza ARN-mesager.

În timp ce compoziţia histonelor este heterogenă variind în raport cu tipul de celulă sau momentul ei funcţional, cantitatea lor este constantă. Ele nu prezintă variaţii decît atunci cînd în nucleu creşte cantitatea de ADN (poliploidie).

Histona care caracterizează complexul ADN-proteine bazice a celulelor somatice, în cursul spermiogenezei, este înlocuită de o proteină bogată în arginină — *protamina* — cu greutate moleculară 3 000 (deci mai mică decît a histonelor). Potrivit studiilor citochimice, protamina poate fi considerată un tip special de histonă bogată în arginină şi la care lipsesc în întregime tirozina, triptofanul, acidul aspartic şi glutamin-fenil-alanina. În complexele cu ADN, protaminele se ieagă prin legături de tip salin asemănătoare legăturilor nucleohistonice. Proteine specifice nucleilor spermatozoizilor, micile molecule de protamine par să folosească în special la neutralizarea ADN, care la acest tip de celule nu are nici o funcţie metabolică.

Pe baza observaţiilor făcute asupra complexelor ADN-proteine bazice se poate trage concluzia că proteinele bazice şi în special histonele pot îndeplini un rol de regulator al activităţii genetice (Bloch, 1963). Efectul reglator poate fi obţinut prin inactivarea anumitor segmente ale ADN, prin suprimarea ARN sub influenţa nucleazei histonice sau prin inhibarea unor enzime care participă la formarea ARN.

În afară de proteinele bazice, în cromatina nucleară au fost puse în evidenţă şi alte tipuri de proteine caracterizate prin punctul lor izoelectric în jurul pH 5,5—6,0, de unde şi denumirea lor de *proteine acide*. Ele pot fi împărţite în două grupe: solubile şi reziduale.

Proteinele *solubile* sînt bogate în triptofan şi se izolează din nucleu ca un reziduu solubil, strîns asociat în special cu ARN cromozomial. Această legătură sugerează că proteinele acide solubile sînt implicate în special în funcţiile metabolice specifice ale nucleului.

Proteinele *reziduale* au greutate moleculară mare şi rămîn în nucleu după extragerea celorlalte tipuri de proteine şi a acizilor nucleici. Cantitativ, ele variază în funcţie de tipul de celulă. De exemplu, nucleul neuronilor are de 20 de ori mai multă proteină reziduală decît capul spermatozoidului. În cromozomi, ele sînt legate de ADN, cu care formează complexe ADN-proteine reziduale. Dacă sînt îndepărtate prin digestie triptică, cromozomii îşi pierd forma, din ei rezultînd o masă amorfă de ADN. Aceasta a dus la concluzia că în nucleu proteinele reziduale sînt proteinele de structură ale cromozomilor.

În carioplasmă au mai fost identificate o serie de enzime, dintre care: *enzime glicolitice* (aldolaza, enolaza, glicerofosfatdehidrogenaza), a căror prezenţă sugerează că nucleul are un metabolism predominent anaerob şi foloseşte glicoliza ca principală sursă de energie; *enzime legate de metabolismul nucleotidelor* (adenozindezaminaza, nucleozidfosforilaza, guanaza). Dintre acestea, nu-

cleozidfosforilaza pare să fie deosebit de importantă, întrucît (potrivit unor cercetări recente), ea se găseşte exclusiv în nucleu şi este implicată în sinteza NAD (nicotinamid-adenin-dinucleotid); *alte tipuri de enzime* (fosfataza alcalină, esteraze, nucleotidfosfatazele, fosfataza acidă, beta-glucuronidaza etc.). De o semnificaţie deosebită par să fie enzimele cu activitate ribonucleazică, în special polinucleotidfosfataza care degradează ARN nuclear (L e r m a n, 1965). Aceste enzime par să regleze transferul ARN în citoplasmă, degradînd excesul de ARN sintetizat în carioplasmă.

În anumite tipuri de celule (acinul pancreatic) se pot întîlni amilază şi lipază.

Întregul echipament enzimatic al nucleului pare să fie localizat în carioplasmă. În nucleol au fost puse în evidenţă cu precizie doar fosfataza alcalină şi nucleozidfosforilaza. În unele tipuri de celule, S i r l i n (1963) a demonstrat prezenţa ARN-metilazei, o enzimă care transferă grupele metil pe bazele ARN.

Lipidele se găsesc în cantitate variabilă, reprezentate în special prin fosfolipide şi colesterol. Lipidele sînt de obicei legate de proteine sub formă de complexe lipoproteice sau lipo-nucleoproteice, localizate cu precădere în membrana nucleară. Foarte rar şi în special sub formă de incluziuni se găsesc în nuclei *lipide neconjugate*.

Substanţele minerale studiate prin tehnica microincinerării sau cu izotopi radioactivi arată că nucleul conţine cea mai mare cantitate de cenuşă din celulă.

La nivelul cromatinei s-au evidenţiat cantităţi relativ mari de cationi metalici bivalenţi, în special calciu şi magneziu. Experienţele în care plantele sînt crescute în medii deficiente de calciu demonstrează o friabilitate a cromozomilor. În cromatină, concentraţia de Ca^{++} şi Mg^{++} este necesară şi pentru activarea multor fermenţi ai metabolismului nucleotidic. Conţinutul în Fe^{++} este mai mare decît în citoplasmă. În general, cantitatea de substanţă anorganică este deosebit de mare la celulele care cresc şi se diferenţiază. Se mai întîlnesc în nucleu cantităţi mici de K, Na, Zn, Cu, Co, fosfor organic.

Apa formează aproximativ 50—80% din greutatea totală a nucleului. Apa este legată fie de proteine, fie de complexele nucleoproteice, iar variaţiile ei sînt însoţite de modificări de volum şi de colorabilitate a masei nucleare.

În cele ce urmează vom aprofunda pe rînd structurile principale ale nucleului în intercineză, şi anume *membrana nucleară, nucleolul, carioplasma*. Vom prezenta apoi *cromozomii* şi vom încheia studiul nucleului, sintetizînd *principalele funcţii* ale lui

MEMBRANA NUCLEARĂ

Conţinutul nuclear este net delimitat de citoplasmă printr-o structură membranoasă. Descrisă pentru prima oară de H e r t w i g (1893), iniţial membrana nucleară a fost considerată ca reprezentînd un strat de absorbţie între coloizii citoplasmei şi coloizii nucleari. Ulterior, studii efectuate pe nucleii izolaţi din

ovocitele stelei de mare au demonstrat că membrana nucleară prezintă particularităţi de structură asemănătoare cu cele ale membranei celulare. În prezent, ea este considerată ca o barieră ce separă conţinutul nuclear (care cuprinde aparatul genetic al celulei), de citoplasmă (care conţine aparatul ei metabolic); în acelaşi timp, la nivelul membranei au loc schimburi permanente între nucleu şi citoplasmă.

În evoluţia organismelor, membrana nucleară apare pe o anumită treaptă a dezvoltării filogenetice. Ea lipseşte la organismele inferioare (protocariote) şi apare abia la fungi şi la celulele organismelor superioare (eucariote). Sub acest aspect, membrana nucleară poate fi considerată ca o structură specializată, a cărei prezenţă pare să regleze interrelaţii nucleocitoplasmatice mai complicate, atît spaţial, cît şi metabolic, la celulele eucariotelor.

Caractere morfologice generale. Pe *celula vie,* membrana nucleară apare sub forma unei pelicule fine, cu un indice de refracţie mult mai mare decît al masei nucleare, trădînd o structură densă. Împinsă cu un micromanipulator, ea arată un grad de elasticitate scăzut.

Membrana fină, abia vizibilă pe celula vie, devine net vizibilă pe *celula fixată.* Această accentuare este atribuită unui proces de agregare a unor componente din structura carioplasmei, care sub acţiunea coagulantă a fixatorilor se depozitează pe faţa internă a membranei nucleare.

Organizare moleculară. Studiile asupra structurii chimice a membranei nucleare arată o compoziţie asemănătoare cu a citomembranelor de tip rugos. În afară de complexe lipoproteice, întîlnim aici şi o cantitate apreciabilă de ARN. Prezenţa ARN ar putea fi un indiciu că la nivelul membranei nucleare au loc sinteze de proteine necesare reînnoirii ei în timpul ciclului celular. Trebuie să menţionăm că membrana nucleară a celulelor fixate prezintă şi o reacţie Feulgen pozitivă. Acest fapt arată că faţa internă a membranei nucleare conţine ADN.

La microscopul electronic, membrana nucleară apare sub forma unei membrane duble, constituită din două foiţe (fig. 20), fiecare cu o grosime de cîte 100 Å şi cu structură trilaminată, corespunzătoare sistemului „unit" de membrane, descris de Robertson în 1959. Membrana externă prezintă ribozomi pe faţa dinspre citoplasmă şi se continuă cu membranele reticulului endoplasmic. Membrana internă este aderentă de miezul nuclear. Între cele două membrane există un spaţiu de 150—300 Å, numit şi *spaţiu intermembranos sau perinuclear.* Acest spaţiu este umplut cu un material amorf, puţin dens la fluxul de electroni, şi comunică direct cu cavitatea reticulului endoplasmic.

Învelişul nuclear nu este continuu, ci prezintă orificii denumite *pori,* cu diametrul cuprins între 300 şi 1 000 Å. Porii, în general, sînt distribuiţi relativ uniform în membrana nucleară şi sînt despărţiţi între ei prin intervale de 1 000—1 500 Å. Astfel, pe un micron pătrat de suprafaţă nucleară se găsesc 25—100 pori. Ei au fost puşi în evidenţă în membrana nucleară a tuturor celulelor, iar numărul lor este direct dependent de intensitatea schimburilor între nucleu şi citoplasmă. De exemplu, celulele acidofile din hipofiza anterioară prezintă circa 800 de pori intercalaţi în membrana nucleară (3% din suprafaţa nucleului), în timp ce neuronii au circa 10 000 de pori (10% din suprafaţa nucleului).

Scanned with OKEN Scanner

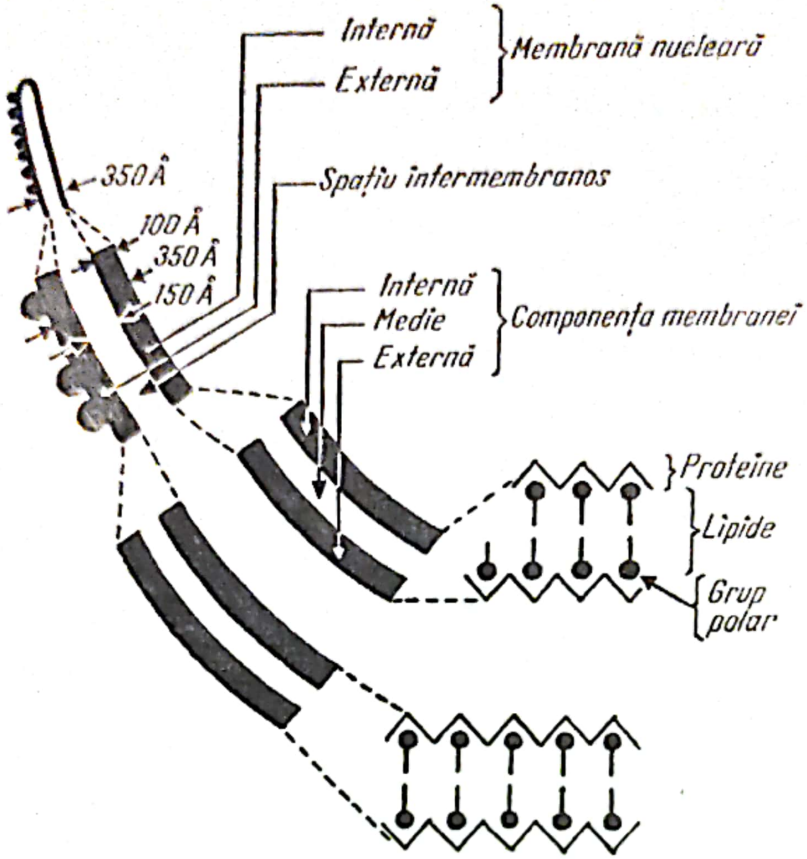


Fig. 20. Structura elementară a membranei nucleare (după J. C. Lewis).

Uneori, porii par să fie acoperiți de un diafragm foarte fin, cu o densitate mai mare la fluxul de electroni. Acest diafragm poate bomba spre cavitatea nucleară sau spre cea citoplasmatică (fenomen observat în celulele embrionare) și pare să controleze tranzitul materialelor prin pori (fig. 21).

La anumite tipuri de celule, în pori se observă formațiuni de aspectul unor mici cilindri, numite *anuli*. În esență, anulii sînt mici tubuli inclavați în por, care proemină spre interiorul sau exteriorul membranei nucleare. Pe fața citoplasmatică, tubulul depășește cu circa 200 Å membrana nucleară extremă și este înconjurat de o zonă de citoplasmă mai densă, care formează „manșeta porului". Pe fața carioplasmei, proiecția tubului este mai mare — de circa 600 Å — și este înconjurată de o zonă de cromatină condensată. Acești tubuli inclavați în por au un perete gros de 240 Å. La microscoapele electronice cu putere de rezoluție foarte mare s-a observat că pereții acestor tubuli au o structură complexă. Așa cum se vede în figura 21, în grosimea peretelui, ei conțin 8 canalicule minuscule, delimitate de o membrană de circa 20 Å și avînd un diametru de 150 Å. Canaliculele inclavate în peretele anulului au fost denumite *subanuli* și sînt înconjurate de un material dens. Porul care conține anuli și subanuli este denumit „por complex".

Foița internă a membranei nucleare, la unele tipuri de celule, este dublată de o serie de benzi alcătuite dintr-un material electronodens, cu o grosime de

300—500 Å, care lipsesc la nivelul porilor. Aceste benzi par să fie de natură scleroproteică şi să aibă un rol de suport al membranei nucleare (P a t r i z i, 1967).

Schimburile între nucleu şi citoplasmă se fac prin intermediul membranei nucleare şi ele trebuie considerate ca fiind procese active. Una din principalele forme de comunicare este reprezentată de *porii nucleari*. Ei servesc la transferul macromoleculelor dinăuntrul nucleului, în special a ribonucleoproteinelor dar în acelaşi timp pot favoriza pătrunderea anumitor substanţe din citoplasmă în nucleu. Experienţe pe amoebe au arătat că particulele coloidale de aur trec din citoplasmă în nucleu prin intermediul porilor nucleari; în timpul migrării lor din citoplasmă în nucleu, ele au fost surprinse în lumenul anulilor membranei nucleare. Detaliile de microscopie electronică de care dispunem arată însă că porii nu pot fi consideraţi simple orificii în învelişul nuclear care să transforme membrana nucleară într-o sită prin care trece cu uşurinţă orice moleculă de dimensiuni convenabile, dintr-o parte în alta. Trecerea substanţelor prin pori trebuie considerată şi ea ca un rezultat al unei funcţii active a *conţinutului* porului, care este diferit de cel al citoplasmei sau al carioplasmei.

O altă formă de comunicare între nucleu şi citoplasmă poate avea loc prin interme-

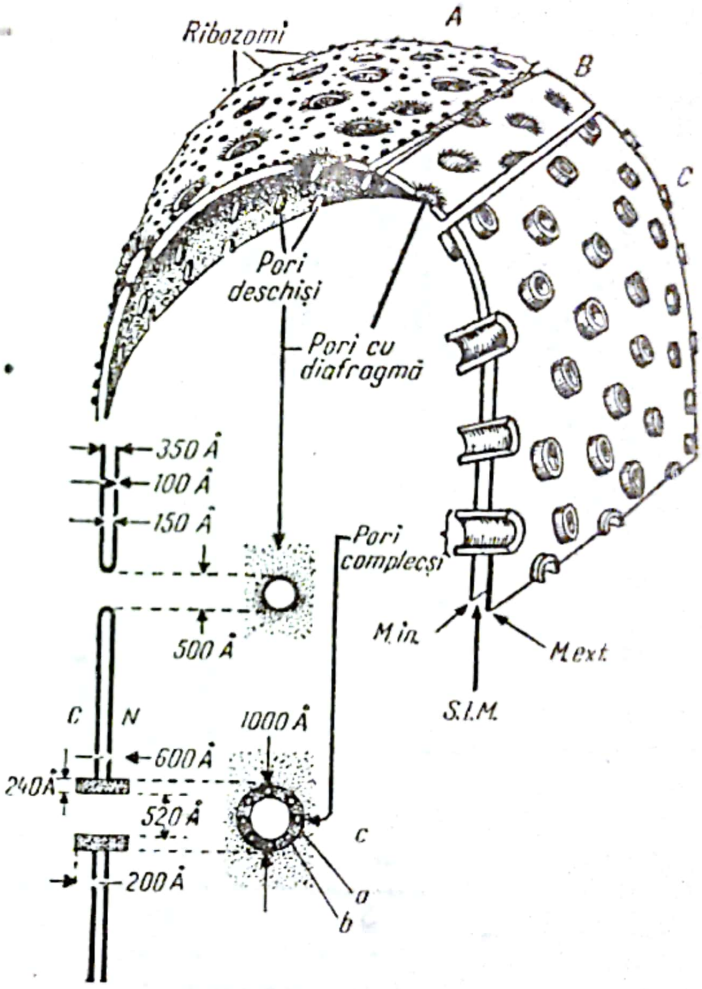


Fig. 21. Aspectul tridimensional al membranei nucleare: Regiunea A — pori deschişi; regiunea B — pori cu diafragm; regiunea C — pori complecşi; regiunea c — structura porului complex; a— anul; b — subanul (după Threadgold).

Scanned with OKEN Scanner

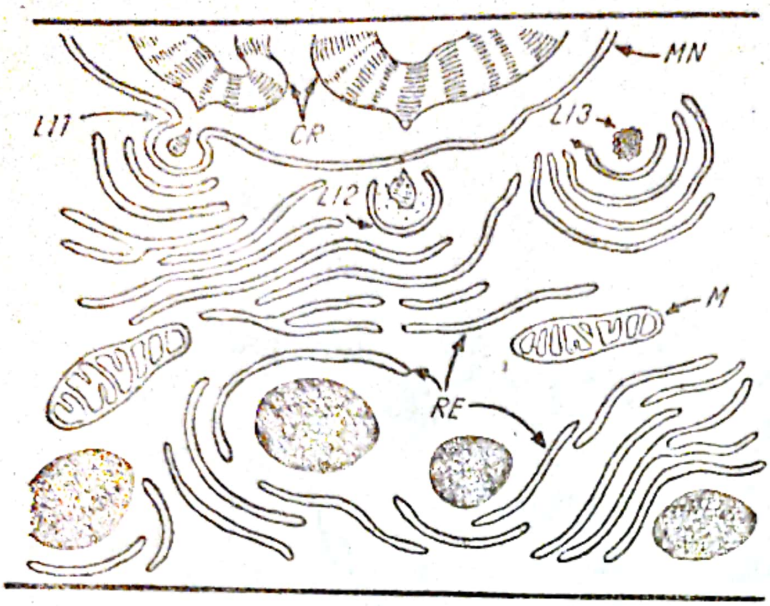


Fig. 22. Structuri lamelare ale membranei nucleare:

MN — membrană nucleară; LI_1 — lamelă inelară în curs de formare; CR — cromozomi; LI_2 — LI_3 — lamelă inelară detaşată în lamelă inelară cu conţinut nuclear; citoplasmă; RE — reticul endoplasmatic; M — mitocondrie (după Threadgold).

diul unor structuri organizate la nivelul membranei nucleare sub forma unor *buzunare de aspect lamelar* (figura 22), specializate pentru transport. Prezenţa structurilor lamelare a fost observată la mai multe tipuri de celule, dar numai în condiţii fiziologice speciale. Foarte numeroase la celulele embrionare (la care au fost observate stocuri de asemenea lamele aşezate în grămezi paralele cu membrana nucleară), ele par să fie implicate în transferul informaţiei de la nucleu la citoplasmă, deci în procesul de diferenţiere a celulelor. Asemenea dispozitive par să servească ca mijloc de transport a substanţelor care controlează şi dirijează sinteza de proteine. Pe o astfel de cale, susţine Török (1966), este transferat materialul imunobiologic din nucleu în citoplasma timocitelor. şi plasmocitelor. Această formă de schimb între nucleu şi citoplasmă este similară cu pinocitoza.

Substanţele cu greutate moleculară mică pot traversa *direct* membrana nucleară. De exemplu, RN-asa (greutate moleculară 13 000), în experienţele efectuate pe amoebe, s-a dovedit capabilă să traverseze membrana şi să modifice aspectul şi reacţia nucleolului. Membrana nucleilor pare să fie permeabilă şi pentru proteine (cu greutate moleculară mică) de tipul protaminelor şi histonelor, pentru diferite săruri, aminoacizi, nucleotide şi hidraţi de carbon. Schimbul activ al substanţelor dinăuntrul nucleului în afara lui şi invers, are loc prin intermediul spaţiului cuprins între cele două foiţe ale membranei nucleare. Un rol important în menţinerea unui spaţiu relativ constant între cele două membrane nucleare pare să-l deţină „anulii". Ca nişte stîlpi inclavaţi în pori, ei asigură existenţa permanentă a acestui spaţiu. Prin intermediul spaţiului perinuclear, nucleul nu pare să vină în contact cu citoplasma, ci numai cu reticulul endoplasmic şi prin intermediul acestuia, în mod intermitent, cu suprafaţa celulară, deci cu mediul extracelular. În acest sens s-a putut demonstra că unii coloranţi vitali acridinici pot colora nucleul fără să coloreze citoplasma, ceea ce demonstrează că este posibilă pătrunderea directă a substanţelor din afara celulelor în nucleu, ocolind hialoplasma, prin intermediul reticulului endoplasmic

(Mirsky şi Osawa, 1961). Nucleul astfel privit pare să aibă o poziţie extracelulară, comunicînd direct cu citoplasma doar la nivelul porilor. O legătură directă a spaţiului perinuclear cu suprafaţa celulară, prin intermediul canaliculelor sistemului vacuolar, este dedusă şi din observaţii care arată că picăturile de lipide din celulele epiteliului intestinal sînt depozitate iniţial în spaţiul perinuclear.

În unele tipuri de celule (embrionare, tumorale) au putut fi observate aglomerări de cisterne ale sistemului vacuolar, orientate paralel cu membrana nucleară. Aceste observaţii sugerează producerea continuă a reticulului de către membrana nucleară şi eliberarea în citoplasmă a cisternelor formate în în acest fel. Creşterea reticulului endoplasmic în timpul dezvoltării ţesuturilor s-ar putea crede că se face pe seama membranei nucleare. În baza acestei ipoteze, membrana ar reprezenta şi o rezervă a sistemului de membrane intracitoplasmatice pentru celulele care se divid rapid.

Membrana nucleară pare să joace un rol important şi în menţinerea organitelor citoplasmatice într-o poziţie anumită. În acest sens, Sandborne (1965) a demonstrat prezenţa în citoplasmă a unor fibrile de circa 185 Å care leagă organitele citoplasmatice între ele şi le ataşează de foiţa externă a membranei nucleare. Fibrilele cromatiniene pe de altă parte se ataşează şi ele de foiţa internă a membranei nucleare asigurînd stabilitatea materialului cromatinic. În figura 26 se poate vedea cum membrana nucleară serveşte pentru orientarea particulelor extranucleare şi stabilizarea fibrelor cromozomiale.

NUCLEOLUL

Nucleolul este un component al nucleului care apare ca o formaţiune corpusculară distinctă numai în intercineză. Observat pe celula vie, la microscopul luminescent, nucleolul are aspectul unei structuri omogene, rotunde sau ovalare, bine delimitată şi mai refringentă decît restul structurilor carioplasmei. El este situat de obicei în interiorul nucleului şi mai rar ataşat de membrana nucleară. Cu microscopul de contrast de fază au fost puse în evidenţă în interiorul nucleolului, în special la celulele zigotului, mici vacuole cu o densitate optică mai mică decît restul masei nucleolare care pot cuprinde pînă la 75% din volumul nucleolului. Aspectul lor clar sugerează că ele au un conţinut apos. În afară de aceste vacuole în nucleoli au mai fost observate granule cu o densitate crescută numite *nucleolini*, care au un indice de refracţie mai mare decît al nucleolului în întregime. Observînd aspectul şi comportarea nucleolilor în celulele vii din culturi de ţesuturi, urmărite prin metoda microcinematografiei în contrast de fază, unii autori au semnalat *mişcări* ale nucleolilor spre membrana nucleară şi chiar fuziunea lor; la nivelul acestor contacte, o parte din vacuole sau din materialul dens din nucleoli pare să treacă în citoplasmă prin intermediul membranei nucleare. În anumite momente func-

Scanned with OKEN Scanner

ţionale ale celulei, prin intermediul membranei nucleare, nucleolul poate contracta chiar schimburi active cu organite din citoplasmă (mitocondriile).

Pe preparate fixate şi colorate, nucleolul se evidenţiază în special în nucleii care au un aspect clar, apărînd ca o masă omogenă cu afinitate crescută pentru coloranţii bazici. În această masă de aspect omogen, Hertwig (1929) a semnalat prezenţa unor structuri filamentoase abia vizibile. Această observaţie a fost confirmată ulterior de către Estable şi Sotello (1951), care prin folosirea unei tehnici speciale de impregnare argentică au evidenţiat la nivelul nucleolului o structură complexă formată dintr-un filament subţire şi încolăcit ca un ghem, denumit *nucleolonema*. Între filamentele nucleolonemei, masa nucleolară pare să conţină o substanţă omogenă astructurată mai puţin densă, denumită de autori *pars amorfa*. La periferia corpului nucleolar, Caspersson (1950) a descris o zonă de cromatină ce aderă strîns de nucleoli pe care el a denumit-o *cromatina asociată nucleolului* şi care astăzi este considerată ca făcînd parte din componentele nucleolului.

De cele mai multe ori, nucleolii au *forma* unor corpusculi rotunjiţi sau ovalari cu un contur bine definit. Uneori, *forma* nucleolilor poate varia considerabil, luînd un aspect alungit (nucleoli trabeculari).

Volumul nucleolului în general prezintă variaţii în strînsă legătură cu activitatea metabolică a celulei, afectată în special sintezei de proteine (de structură sau de export). În faza de activitate anabolică, nucleolul se hipertrofiază, iar în stadiul catabolic el diminuează ca volum. Este de semnalat în acest sens scăderea volumului nucleolar la animalele în inaniţie şi creşterea acestuia în momentul realimentării animalelor. Semnificativă este şi creşterea de volum a nucleolului la celulele angajate în procesul de diferenţiere sau de creştere.

În mod obişnuit, celulele prezintă un singur nucleol. La celulele adulte, *numărul* nucleolilor este dependent de numărul seturilor cromozomiale. Hepatocitele care au nuclei poliploizi prezintă doi sau chiar mai mulţi nucleoli (în raport direct cu gradul de ploidie). Numărul nucleolilor pare să depindă şi de sex; de regulă sînt mai numeroşi la sexul feminin decît la sexul masculin. Acest aspect poate fi corelat cu prezenţa unui organizator nucleolar la nivelul heterocromozomului X (v. *Cromatina sexuală*).

Nucleolul este considerat *cea mai densă structură a celulei.* Această particularitate a fost demonstrată mai întîi pe celula vie în ovocita ariciului de mare, la care răsturnarea nucleului este urmată de deplasarea nucleolului în punctul cel mai declin, apoi în procesul sedimentării prin centrifugare diferenţiată a omogenatelor celulare în care nucleolul este prima structură care se depune în sediment. Densitatea mare a nucleolului poate fi pusă în legătură cu concentraţia crescută de substanţe chimice. Ca şi în cazul celorlalte organite celulare, densitatea nucleolilor este supusă unor considerabile oscilaţii fiziologice. De exemplu, greutatea uscată a nucleolilor din ovocitele stelei de mare scade la maturaţia celulelor de la 90 la 35%.

Principalele *componente chimice* ale nucleolului sînt acizii ribonucleici (ARN) şi proteinele.

Scanned with OKEN Scanner

ARN. Majoritatea analizelor histochimice şi determinărilor biochimice probează că nucleolul este structura celulei care conţine cantitatea cea mai mare de ARN. Cunoscînd bogăţia în ARN a nucleolului, este uşor de explicat bazofilia lui în metodele care folosesc coloranţi nucleari la pH acid; dacă ARN este îndepărtat prin tratare cu RN-ază, bazofilia nucleolului dispare. Conţinutul în ARN explică şi pironinofilia nucleolului (el se colorează în roşu cu metoda Brachet). În spectrofotometria de absorbţie, ARN prezintă o bandă caracteristică cu maximum la 2 600 Å.

Proteinele. Determinări chimice cantitative ale proteinelor arată că nucleolul are un conţinut în proteine foarte crescut, putînd ajunge pînă la 85% din masa totală. Cercetări electroforetice recente demonstrează că proteinele nucleolului sînt similare proteinelor ribozomilor citoplasmatici. O parte din proteinele nucleolului sînt proteine enzimatice, dintre care cele mai importante sînt fosfataza alcalină, fosfataza acidă, ATP-aza, ARN-polimeraza, RN-aza, Guanozin-trifosfataza (GTP-aza) şi enzime implicate în sinteza nicotin-adenin-dinucleotidului (NAD-pirofosforilaza).

La nivelul nucleolilor au mai fost puşi în evidenţă precursori ai ARN, ADN şi proteinelor, grupări SS şi SH; prin tehnica centrifugării diferenţiate în gradient de densitate au fost detectate prin determinări cantitative şi *mici cantităţi de ADN*. Un timp s-a considerat că ADN provine din zona de cromatină strîns asociată nucleolului, care în timpul izolării lui rămîne aderentă de acesta. Recent, prin metode de citochimie combinate cu autoradiografie la microscopul electronic, s-a demonstrat prezenţa ADN chiar în corpul nucleolar.

Ultrastructura. În 1951, Borysko şi Bang, cercetînd la microscopul electronic ultrastructura nucleolului, au arătat că este format din cordoane dense la fluxul de electroni separate de spaţii clare, confirmînd prezenţa nucleolonemei şi părţi amorfe observate anterior la microscopul fotonic. Folosind metode de studii îmbunătăţite, B e r n h a r d (1958) precizează că nucleolonema este constituită din fibrile de circa 50 Å şi din particule rotunde de circa 150 Å. Între fibrile şi granule se găseşte un material amorf, uneori fin granular. La periferia nucleolului au fost observate aglomerări de fibrile şi granule din cromatină (v. *Ultrastructura cromatinei*), care pătrund pînă în partea centrală a corpului nucleolar. Cercetări efectuate la microscopul electronic cu putere de rezoluţie mare au permis identificarea în condiţii optime a patru componente principale din structura nucleolului care par să dispună într-un anume fel în corpul nucleolar: a) elemente fibrilare groase de 50 Å şi lungi de 300—400 Å ce formează reţele dense la fluxul de electroni şi se situează în porţiunea centrală a nucleolului; în ansamblu, ele alcătuiesc *pars fibrosa;* b) granule de 150—200 Å se situează în jurul părţii fibroase; ele sînt asemănătoare cu ribozomii citoplasmatici şi alcătuiesc *pars granulosa;* c) matricea amorfă are o structură foarte fin granulară şi este mai densă între fibrile; d) *pars cromosoma* reprezentată de materialul cromatinian din jurul nucleolului şi din interiorul lui. Această sistematizare a componentelor nucleolare poate fi urmărită pe schema alăturată (fig. 23).

În raport cu tipul de celulă pe baza structurii lor fine, nucleolii au fost clasificaţi în două categorii: omogeni şi heterogeni.

Scanned with OKEN Scanner

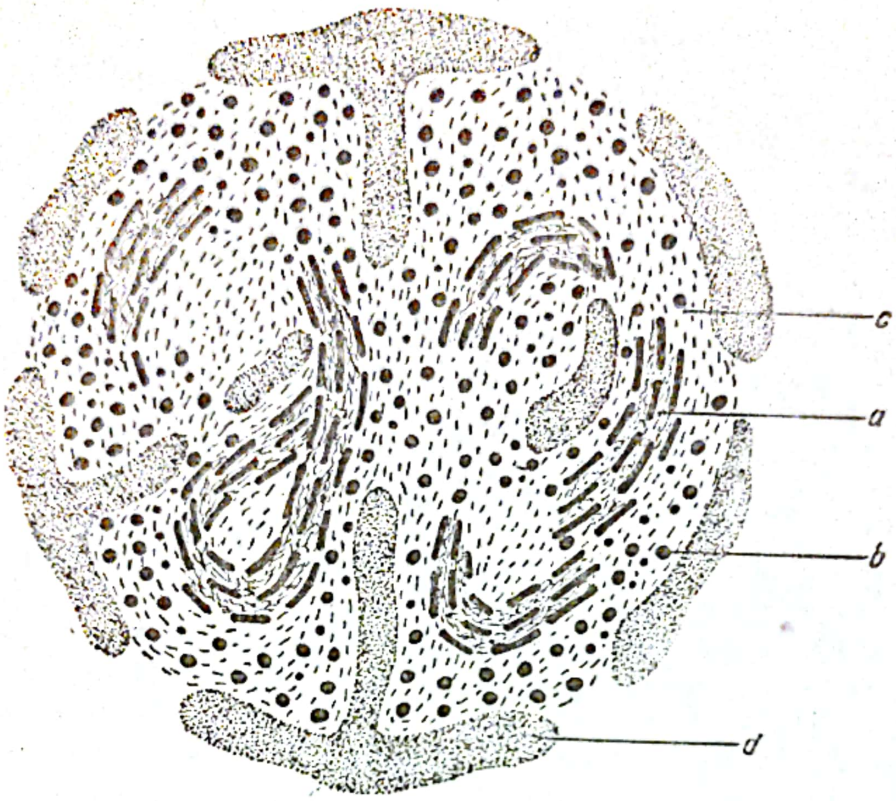


Fig. 23. Schemă arătînd organizarea inframicroscopică a nucleolului (Bernhard):
a — pars fibrosa; b — pars granulosa; c — matricea; d — cromatina asociată nucleolului.

Tipul omogen are o structură compactă. Componentele nucleolului nu pot fi distinse datorită densităţii lor apropiate, iar nucleolul capătă aspectul unui corpuscul astructurat.

Tipul heterogen se distinge printr-o structură complexă, în care fiecare din cele patru componente pot fi observate în condiţii optime. Pe aceste tipuri de nucleoli, cercetări de citochimie la microscopul electronic şi autoradiografii electronice cu material marcat au arătat că *pars granulosa* şi *pars fibrosa* conţin ARN, în timp ce *pars cromosoma* conţine ADN. Materialul amorf pare să conţină proteine.

Interrelaţiile dintre nucleoli şi substanţa nucleară demonstrate la microscopul electronic sînt semnificative şi dovedesc că nucleolul nu are membrană. El se află într-un contact direct cu cromozomii şi sucul nuclear (fig. 24).

Originea nucleolului este încă discutată. Faptul că la începutul diviziunii celulare nucleolul dispare ca organit şi apare în telofază a sugerat că nucleolul se formează din materiale asociate cu cromozomii în timpul diviziunii, organizate sub formă de corpusculi denumiţi *corpusculi prenucleolari*. Aceştia par să reprezinte în realitate fragmente din nucleolonemă, care în cursul mitozei se împart ca şi cromozomii între celulele-fiice. Imediat după diviziune, materialul nucleolar rămîne dispersat în masa nucleului (aspect care justifică numărul crescut de nucleoli observaţi la celule după diviziune), mai tîrziu corpusculii nucleolari fuzionează formînd un singur nucleol.

Segmentele cromozomilor care asamblează corpusculii prenucleolari se numesc *organizatori nucleolari*. Numărul cromozomilor care pot organiza formarea nucleolilor este limitat şi variază în funcţie de specie. Celulele somatice umane par să prezinte un număr de cinci perechi de cromozomi care comportă organizatori nucleolari. La nucleul interfazic ei sînt situaţi în vecinătatea nucleolului, pe care îl organizează formînd *cromatina asociată nucleolului*. Mici segmente din cromonemele cromozomilor care comportă organizatori nucleolari sînt deseori identificate şi în interiorul nucleolului. Împreună cu cromatina de la periferie, ele alcătuiesc unul din componenţii structurali ai nucleolului — *pars cromosoma*.

Organizatorii nucleolari, în afară de asamblarea corpusculilor, prenucleolari, sînt responsabili şi de sinteza unui nou material nucleolar. Cercetări histoautoradiografice au adus dovezi în acest sens, arătînd că precursorii ARN sînt încorporaţi în *pars cromosoma* a nucleolului. Este interesant de semnalat faptul că recent au fost aduse dovezi ce demonstrează că timidina marcată (precursor al ADN) este şi ea încorporată în *pars cromosoma*.

Nucleolii sînt deci produsul unor zone cromozomiale distincte numite organizatori nucleolari, cu care ei stau într-o strînsă corelaţie topografică.

Semnificaţia funcţională a nucleolului. Rolul important jucat de nucleol în metabolismul celulei a fost dedus din numeroase

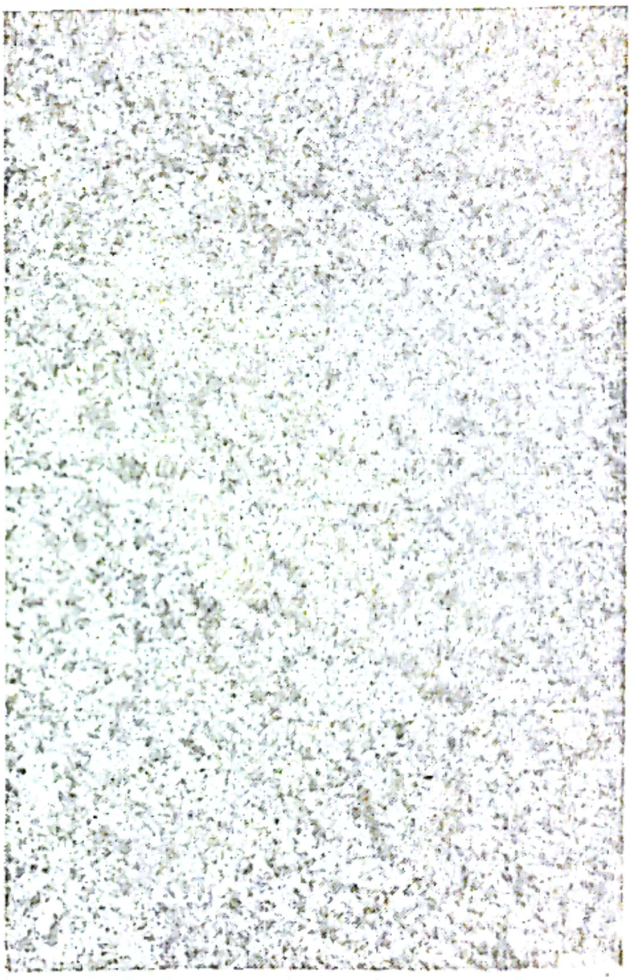


Fig. 24. Imaginea nucleolului la microscopul electronic (după Dr. N. Simionescu).

Scanned with OKEN Scanner

fapte de observaţie care au arătat că cea mai mare parte din ARN-nuclear este localizat în nucleoli şi că celulele care sintetizează proteine au un nucleol mare. Din aceste observaţii s-a dedus că nucleolul îndeplineşte două funcţii esenţiale: a) de depozitare a ARN-nuclear; b) de sintetizare a unor proteine de tip particular. Prin cele două funcţiuni, nucleolul apare ca o structură a nucleului care acţionează într-o strînsă interdependenţă cu cromatina (a cărui ADN serveşte drept matrice pentru formarea ARN) şi cu citoplasma (căreia îi furnizează ARN şi proteine).

Depozitarea ARN în nucleol, însoţită de transmiterea lui în citoplasmă, este unul din aspectele cele mai semnificative ale influenţării de către nucleu a proceselor metabolice din citoplasmă. Din cele trei tipuri de ARN aflate în celulă şi sintetizate de nucleu, studii bazate pe unele efecte de metacromazie şi în special cele de urmărire a încorporării precursorilor marcaţi în ARN, au putut demonstra la nivelul nucleolului prezenţa în mod constant a două din cele trei tipuri de ARN celular, şi anume: *ARN ribozomal* şi *ARN solubil sau de transfer*.

ARN-ribozomal este sintetizat la nivelul organizatorilor nucleolari. Studii recente arată că ARN-ribozomal este complementar ADN cistronilor ribozomali prezenţi în cromatina perinucleolară. O dată sintetizat, ARN ribozomal intră în compoziţia granulelor de 150—200 Å din structura nucleolului, precursori ai ribozomilor citoplasmatici.

ARN-solubil poate fi sintetizat în locuri diferite. Unii cercetători aduc argumente în sprijinul ipotezei că cistronii de pe ADN care codifică ARN-ribozomal nu sînt net separaţi de cei care codifică ARN-solubil, deci, ca şi ARN-ribozomal, ARN-solubil s-ar sintetiza pe ADN din cromatina perinucleolară (Smith, 1968). Pe de altă parte există observaţii care par să demonstreze că ARN de transfer poate fi sintetizat şi pe alţi cromozomi, nu numai pe organizatorii nucleolari.

Studiile lui Mitchison (1967) demonstrează posibilitatea de formare a ARN nucleolar pe matrice de ARN-ribozomal, care pot servi drept tipare pentru sinteza altor molecule de ARN. Este vorba de aşa-numiţii „amplificatori de ARN", capabili să sintetizeze în anumite condiţii atît ARN-ribozomal, cît mai ales ARN-solubil.

O dată sintetizate, cele două tipuri de ARN (cel solubil şi cel ribozomal) sînt depozitate în cea mai mare parte la nivelul nucleolilor, de unde trec în citoplasmă ori de cîte ori celula îi solicită pentru sinteza de proteine.

Se consideră că pentru scurte perioade de timp, în trecerea lui spre citoplasmă de la nivelul diferiţilor cromozomi unde este format, ARN-mesager (cel de-al treilea tip de ARN celular) poate fi şi el depozitat la nivelul nucleolului care serveşte în acest sens ca staţie de tranzit pentru mesaj în drumul lui spre citoplasmă.

Transferul macromoleculelor de ARN în citoplasmă se face diferit pentru ARN-ribozomal, ARN-solubil şi ARN-mesager.

ARN-ribozomal, care este asamblat în complexe ARN-ribozomal-proteine, sub formă de subunităţi ribozomale, trece în citoplasmă prin porii membranei nucleare. La unele tipuri de celule, canaliculele care traversează porii membra-

Scanned with OKEN Scanner

nei nucleare pătrund în masa nucleolară, permiţînd un contact direct a nucleolului cu citoplasma (M o n n e r o n, 1967). Adesea, canaliculele nucleolare se continuă cu spaţiul perinucleolar, deci cu ergastoplasma.

ARN-mesager depozitat în nucleol pare să formeze şi el complexe ARN-proteine organizate sub forma unor subunităţi care trec în citoplasmă, la fel ca şi subunităţile ribozomale.

ARN-solubil pare să treacă în citoplasmă printr-un proces simplu de difuziune prin membrana nucleară.

Cea de-a doua funcţie îndeplinită de nucleol este cea de *sinteză a unor proteine celulare*. Această funcţie a fost dedusă iniţial din observaţii citologice care au demonstrat că celulele care sintetizează activ proteine au un nucleol de volum mărit, în timp ce celulele care nu sînt active au nucleoli mici sau nu prezintă nucleoli.

Participarea nucleolilor la sinteza de proteine, recent a fost demonstrat prin cercetări histoautoradiografice care folosesc aminoacizi marcaţi cu carbon radioactiv. S-a arătat că încorporarea aminoacizilor în lanţuri polipeptidice este mai rapidă în nucleoli la anumite tipuri de celule, decît în citoplasmă, ceea ce probează că sinteza de proteine poate fi uneori chiar mai activă în nucleoli. Un exemplu semnificativ în această direcţie îl oferă procesul de diferenţiere a fibrelor musculare. În cursul formării miofibrilelor, celulele musculare prezintă nucleolii hipertrofiaţi, în timp ce în fibra musculară diferenţiată, nucleolii sînt mici. De aici, concluzia că nucleolii participă la sinteza proteinelor ce intră în alcătuirea miofibrilelor. În general, nucleolii se hipertrofiază în special în cursul diferenţierii ţesuturilor, sugerînd o participare a lor la sinteza de proteine special diferenţiate în vederea unor funcţii specifice. O altă parte din proteinele sintetizate de nucleoli serveşte pentru organizarea complexelor ARN-proteine (ribozomi).

În afară de sinteza de proteine, la nivelul nucleolului se sintetizează NAD, coferment important în procesele oxido-reductorii din citoplasmă. Proteinele şi NAD sintetizate de nucleoli sînt eliminate în citoplasmă prin intermediul membranei nucleare. Şi într-un caz şi în altul, nucleolul mărit de volum pare să se apropie de membrana nucleară şi să-şi verse conţinutul în spaţiul perinuclear, iar de aici în citoplasmă prin intermediul unor veziculări ale membranei. În anumite celule (ovocite de amfibie, celulele ganglionului spinal) s-au observat eliminări ale nucleolilor întregi în citoplasmă.

Nu întotdeauna creşterea de volum a nucleolului este un indiciu de activitate a nucleolului. Uneori, hipertrofia nucleolului poate fi atribuită unei hidratări marcate (manifestată prin existenţa a numeroase vezicule cu conţinut lichid observate şi la microscopul luminescent şi la microscopul electronic).

În concluzie, semnificaţia funcţională a nucleolului constă în faptul că el este un mediator între cromozomi şi citoplasmă, ocupînd o poziţie centrală în transferul informaţiei de la cromozomi la citoplasmă. La nivelul lui se depozitează ARN de transfer (uneori ARN-mesager), se asamblează ribozomii, care, migrînd în citoplasmă, servesc drept sedii pentru sinteza de proteine de tip particular.

Scanned with OKEN Scanner

CARIOPLASMA

Carioplasma sau nucleoplasma este materialul nuclear cuprins în limitele membranei nucleului intercinetic în care este înglobat şi nucleolul.

Examinată pe *celula vie*, la microscopul fotonic carioplasma, cel mai adesea, apare de aspect omogenă, turgescentă şi mai refringentă decît citoplasma. Privită la microscopul cu contrast de fază, ea pare să fie compusă dintr-un reticul (alcătuit din numeroase granule sau filamente fine), refringent, înglobat într-o substanţă mai puţin refringentă. Utilizarea unor coloranţi vitali de tipul violetului de Dahlia facilitează observaţia granulelor sau a filamentelor, care apar uşor colorate şi dispersate în substanţa ce rămîne incoloră. Granulele mai refringente care se colorează uşor cu violet de Dahlia au fost denumite *cromatină*, iar substanţa care scaldă aceste granule a fost denumită *suc nuclear*.

Experienţe de microdisecţie efectuate pe celula vie au arătat că nucleoplasma este compusă din două faze: o fază de sol care difuzează din nucleu cînd membrana este lezată (sucul nuclear) şi o fază de gel care se coagulează şi nu difuzează din nucleu (cromatina). Aceste experienţe au dus la concluzia că din punct de vedere fizic carioplasma (ca şi citoplasma) alcătuieşte un sistem coloid în care apa este mediul de dispersie. Acest mod de organizare ar sta la baza aspectului turgescent şi translucid al masei nucleare observate pe celula vie.

Pe *celulele fixate şi colorate*, carioplasma apare mai net structurată decît pe celula vie şi compusă dintr-o substanţă care se colorează cu coloranţi bazici — *cromatină* — şi o substanţă intercromatinică slab colorabilă — *sucul nuclear*. Disocierea carioplasmei în cromatină şi suc nuclear este consecinţa acţiunii fixatorilor asupra substanţelor chimice ale nucleului, în special asupra nucleoproteinelor, componentele cele mai importante ale carioplasmei. Sub acţiunea fixatorilor ele pierd apa şi încărcătura lor electrică şi se agregă sub formă de particule variabile ca formă, mărime şi afinitate tinctorială, ansamblul cărora formează cromatina nucleară. Între aceste particule se dispune sucul nuclear.

Cromatina nucleară variază ca aspect de la celulă la celulă. Astfel, în unii nuclei ea apare sub formă de particule fine, slab colorate şi omogen dispersate, nuclei viziculoşi, în timp ce în alte celule cromatina apare organizată din particule grosolane, intens colorate şi aglomerate în grămezi, nuclei crustoşi, sau aranjate în benzi radiare, nuclei în spiţă de roată. Ocazional, unele celule la care cromatina în mod obişnuit este de aspect fin granular pot prezenta granule mari intens colorate, aspect care trădează o suferinţă celulară şi caracterizează nucleii „picnotici". Între toate aceste forme există nenumărate stadii intermediare de prezentare a cromatinei nucleare, dependente în afară de tipul de celulă, de stadiul funcţional al nucleului respectiv. Este important de reţinut faptul că la nivelul ţesuturilor aspectul cromatinei nucleare poate constitui un criteriu de recunoaştere şi de identificare morfologică a celulelor.

Structura reală a cromatinei a putut fi elucidată o dată cu introducerea unor dispozitive microscopice speciale ca cel cu contrast de fază şi cel de interferenţă. În anumite celule, studiul cromatinei cu aceste dispozitive arată că în

Scanned with OKEN Scanner

intercineză ea este alcătuită din formaţiuni fibrilare fine, răsucite, denumite *cromoneme*. Cromonemele în majoritatea lor sînt dispersate în interiorul nucleului, dar pe alocuri pot să apară încolăcite şi intens spiralate, organizate în structuri dense, asemănătoare cromozomilor. De aici, ideea că cromonemele reprezintă structura microscopică elementară atît a cromatinei cît şi a cromozomilor.

Pe baza acestor rezultate, în prezent cromatina este considerată ca reprezentînd un mod particular de prezentare a cromozomilor care în nucleul intercinetic apar alcătuiţi din cromoneme întinse şi risipite fără ordine în masa nucleară.

Studiile citochimice şi biochimice au întărit această concepţie, arătînd că atît cromatina cît şi cromozomii sînt alcătuiţi din aceleaşi componente. Drept urmare, în unele lucări, termenii de „cromatină" şi „cromozomi" sînt interpretaţi drept sinonime. Plecînd de la aceste considerente, zonele din cromatină care în intercineză apar mai intens colorate faţă de altele au fost interpretate ca reprezentînd porţiuni din cromozomi rămase într-un stadiu condensat.

Pentru a deosebi porţiunile din cromozomi care rămîn vizibile în intercineză de restul cromatinei, în 1928 H e i t z a introdus termenii de *heterocromotină* şi *eucromatină*. El defineşte prin termenul de heterocromatină regiunile cromozomilor care rămîn condensate în timpul intercinezei (cromocentrii), iar prin termenul de eucromatină restul cromozomilor care în aceeaşi perioadă de timp apar sub formă de fibrile dispuse în spirale laxe care umplu masa nucleară.

Zonele de heterocromatină sînt reprezentate de segmente din cromozomi ce rămîn strîns spiralizate pe tot parcursul intercinezei (alfa-heterocromatină) sau de segmente care se pot relaxa şi transforma în eucromatină în funcţie de necesităţile funcţionale ale celulei (beta-heterocromatină). O dovadă că heterocromatina se poate transforma în eucromatină a fost adusă de M i l n e r (1968), care arată că limfocitele în culturi de celule supuse unui tratament cu fitohemaglutinină (substanţă care are proprietatea de a transforma limfocitele în celule blastice) prezintă o decondensare a heterocromatinei care în cea mai mare parte se transformă în eucromatină.

După aşezare în nucleu, L i m a d i F a r i n (1955) împarte heterocromatina în trei categorii: a) heterocromatina asociată cu nucleolul, care intră în constituţia aparatului nucleolar; b) heterocromatina dispersată, reprezentată de mici granule risipite în masa nucleară (cromocentrii); şi c) heterocromatina asociată membranei nucleare.

Cantitatea de material cromozomial condensat sub formă de heterocromatină prezentă în nucleul intercineză variază după tipul de celule. De exemplu, ea este crescută la limfocite, în care, după aprecierile lui F r e n s t e r (1963), 80% din materialul nuclear se prezintă în stadiu condensat. În general, heterocromatina caracterizează nucleii intens cromatici, iar eucromatina caracterizează nucleii veziculoşi.

Termenii de eucromatină şi hetecromatină implică, în acelaşi timp, şi diferenţe de funcţii ale cromatinei nucleare. Astfel, regiunile condensate ale cromatinei vizibile în intercineză reprezintă heterocromatina metabolic inertă, în timp ce zonele mai palide reprezintă eucromatina metabolic activă. Priviţi sub acest aspect, nucleii „veziculoşi", bogaţi în eurocromatină, caracterizează

Scanned with OKEN Scanner

Fig. 25. Nucleu de fibră musculară striată. Imagine electronomicroscopică:
a — eucromatină; b — heterocromatină (Catedra de Histologie — Bucureşti).

celulele cu citoplasmă puternic bazofilă (celule glandulare, neuroni, celule embrionare), în care ei sînt activi din punct de vedere metabolic. Nucleii „intens cromatici", bogaţi în heterocromatina, caracterizează celulele în care ei sînt într-un stadiu de inactivitate (eritrocitul matur de pasăre). Excepţie fac celulele plasmatice, la care, deşi nucleul prezintă numeroase zone de heterocromatină, el este metabolic activ.

Ultrastructura carioplasmei. Primele cercetări asupra structurii fine a nucleului, efectuate la microscopul electronic cu mică putere de rezoluţie (S j ö s t r a n d, 1956), au relatat că în contrast cu bogăţia de structuri găsite în citoplasmă, carioplasma apare formată dintr-o substanţă granulară amorfă, care îi dă un aspect omogen.

Creşterea puterii de rezoluţie a microscopului electronic în ultimii ani a permis studii mai ample asupra conţinutului nuclear, aducîndu-se precizări în ultrastructura cromatinei şi a sucului nuclear.

Cromatina nucleară se dovedeşte a fi compusă dintr-un număr mare de *fibrile* sinuoase şi din *granule*.

Fibrilele se prezintă sub două forme: a) distribuite la întîmplare într-o textură fină puţin densă la fluxul de electroni, aspect ce caracterizează eucromatina (fig. 25); b) agregate sub formă de benzi care apar dense la fluxul de electroni, aspect caracteristic pentru heterocromatină (fig. 25). Cele două forme de prezentare a fibrilelor sînt interşanjabile, fiind direct dependente de activitatea funcţională a nucleului.

Diametrul acestor fibrile a fost apreciat ca fiind în jur de 200 Å. Numeroase observaţii aduc dovezi în sprijinul ideii că aceste fibrile reprezintă *unităţile de structură atît a cromatinei în intercineză cît şi a cromozomilor în mitoză*. Dintre acestea amintim cercetările lui D a v i e s (1967) privind în special zona de heterocromatină vizibilă la periferia nucleului în care el demonstrează prezenţa fibrilelor în jur de 200 Å ordonate şi grupate sub formă de benzi electronodense. Concomitent cu aceste studii, structura fibrilară în jur de

Scanned with OKEN Scanner

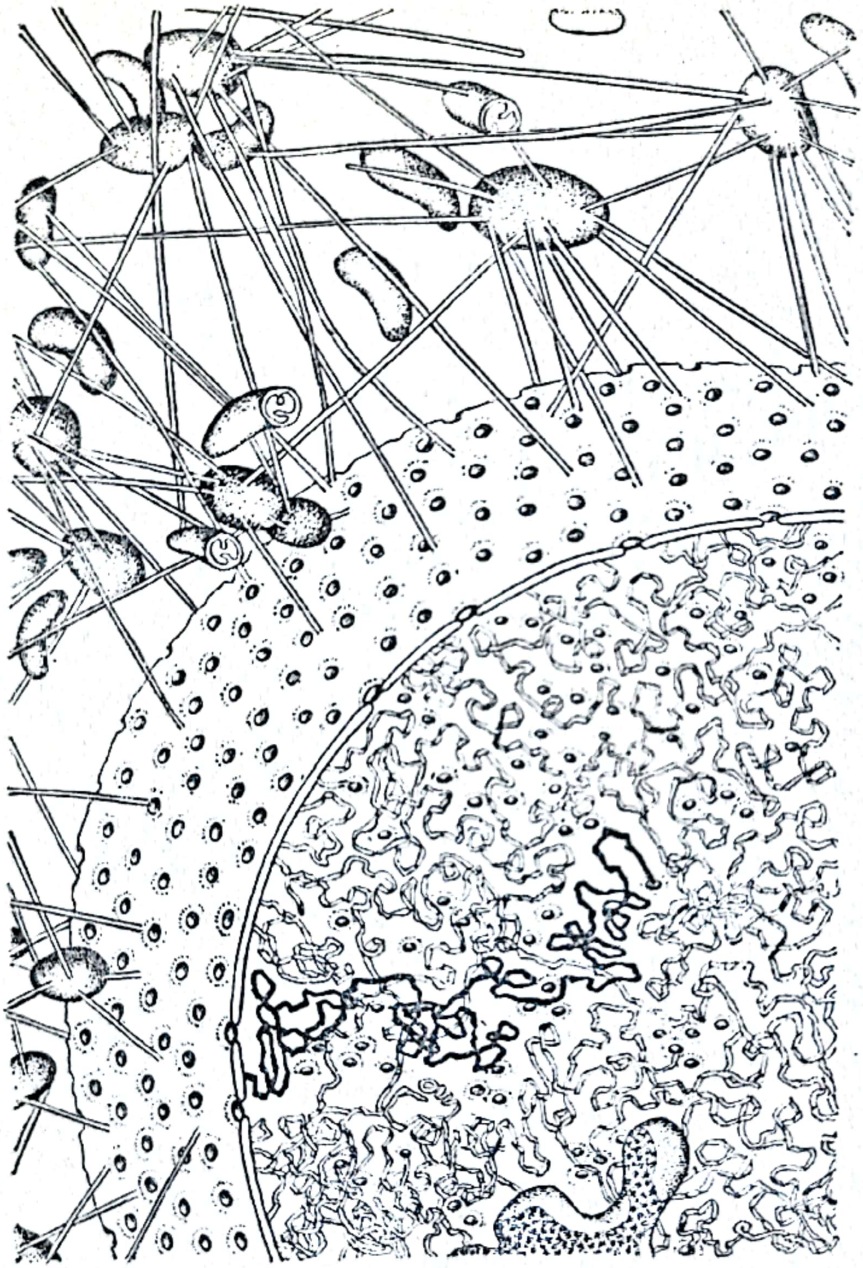


Fig. 26. Ultrastructura cromatinei în intercineză. Fibra de cromatină colorată în negru este echivalentul unui singur cromozom în interfază (DuPraw).

200 Å a putut fi pusă în evidenţă şi la nivelul cromozomilor. Folosind metode de dispersare a materialului cromozomial pe interfaţa aer-apă, Barnicott (1967) evidenţiază prin colorare negativă cu acetat de uranil formaţiuni fibrilare de dimensiuni asemănătoare cu cele observate pe suprafaţa de secţiune a nucleului în intercineză la nivelul zonelor de heterocromatină. Un alt argument în favoarea existenţei acestor unităţi de structură a fost adus de studiile lui

Scanned with OKEN Scanner

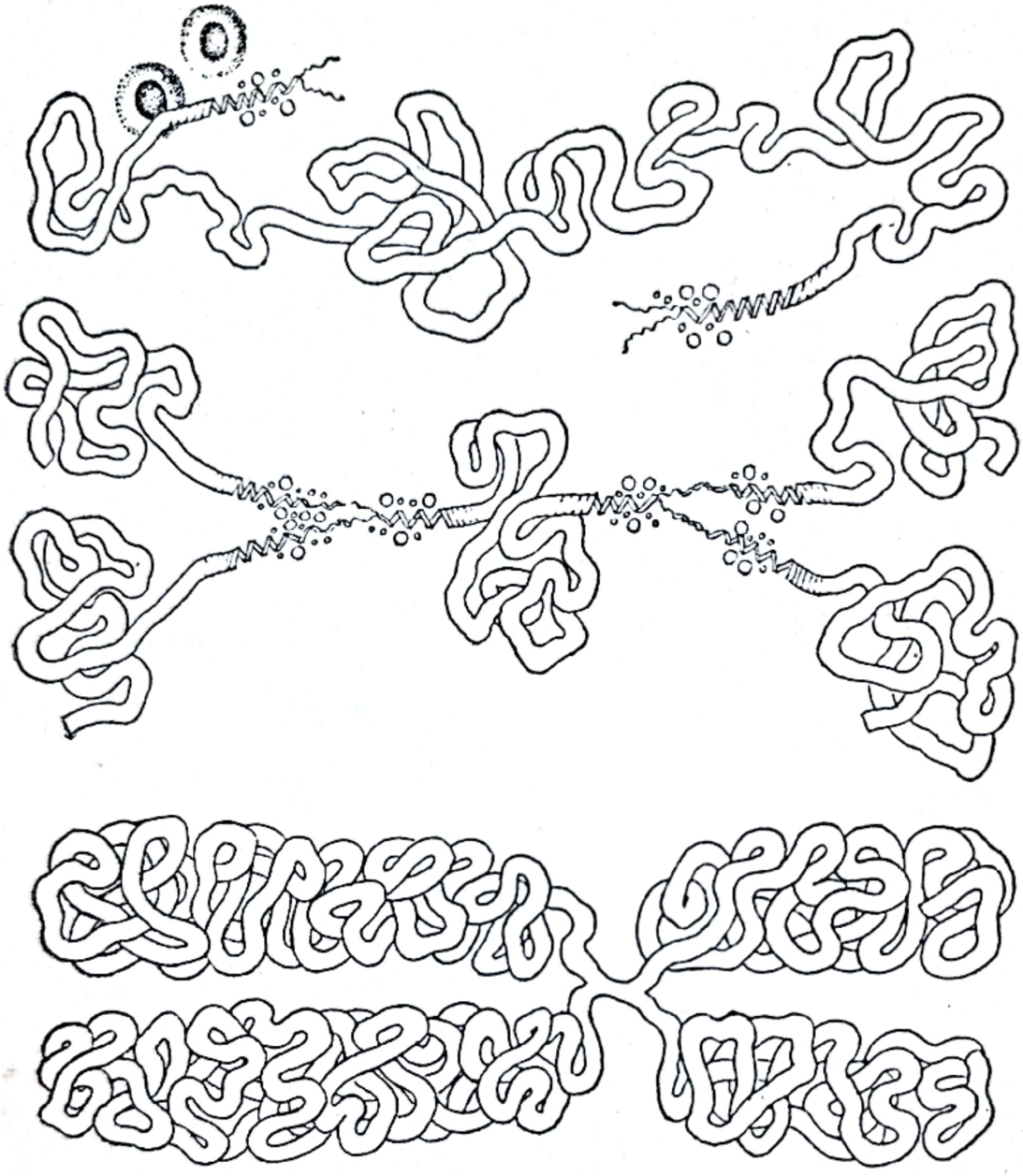


Fig. 27. Organizarea moleculară a unității de structură în intercineză și modul ei de plicaturare în cromozomul cinetic (DuPraw).

DuPraw (1968), care demonstrează că fibrilele cromatiniene sînt atașate de membrana nucleară (în stricta vecinătate a anulilor), iar cînd membrana este disociată, capetele rupte ale acestor fibrile care măsoară circa 200 Å rămîn aderente de anuli (v. fig. 26).

Cercetări citochimice efectuate în scopul elucidării structurii moleculare a acestor unități au arătat că fibrilele cromatiniene aglomerate în zonele de heterocromatină sînt sensibile la tripsină, DN-ază, se dizolvă în soluții saline concentrate și se agregă în prezența cationilor bivalenți. Aceste fapte demonstrează natura lor dezoxiribonucleoproteică. Studii de citochimie aplicată pe ultrastructuri sugerează că fibrilele de 200 Å sînt alcătuite dintr-un ax central reprezentat de un complex ADN-histone (histone bogate în lizină) cu un diametru de 30 Å.

Scanned with OKEN Scanner

Acest complex se spiralizează puternic într-un helix secundar pentru a forma fibrila de 200 Å. Spiralizarea pare să fie indusă de prezenţa celui de-al doilea tip de histone (bogate în arginină). Din plicaturarea acestora din urmă rezultă cromozomii (fig. 27).

Intrucît componentele fibrilare care umplu în întregime masa nucleului în intercineză sînt prezente şi în structura cromozomilor, este justificată concluzia că nucleoplasma constă în special din cromozomi. Deosebirea dintre fibrele nucleului intercinetic şi cel mitotic constă în gradul lor de plicaturare. Forma de agregare laxă sau în structuri compacte determină realizarea celor două funcţii ale nucleului (metabolică şi genetică).

Pe alocuri, alipite de unităţile fibrilare la microscopul electronic, se pot observa formaţiuni corpusculare de 300—350 Å, denumite *granule pericromatinice*, precum şi granule de 150—200 Å, formate din filamente de ARN asociate cu proteine — *ribozomii nucleari*.

Sucul nuclear constituie mediul în care se găsesc risipite sau aglomerate fibrilele şi granulele al căror ansamblu formează cromatina. El are un aspect omogen sau fin granular şi conţine proteine nehistonice şi protein-enzime.

CROMATINA SEXUALĂ

Cromatina sexuală este un cromocentru cu aparenţă şi semnificaţie deosebită, descris pentru prima dată de către B a r r şi B e r t r a n d (1949) în nucleii neuronilor din ganglionul hipoglos de pisică sub denumirea de cromatină sexuală sau *corpuscul Barr*. Termenul se referă la o formaţiune heterocromatică din nucleii celulelor aflate în intercineză, care dă relaţii asupra sexului organismului de la care provine celula (fig. 28). Aceşti corpusculi sînt prezenţi numai la sexul feminin şi lipsesc la cel masculin. Cromatina sexuală poate fi evidenţiată în nucleu numai în timpul intercinezei.

Celulele cele mai demonstrative pentru studiul cromatinei sexuale sînt cele din stratul spinos al pielii. Printr-o tehnică extrem de simplă, cromatina sexuală poate fi demonstrată pe celulele raclate din mucoasa bucală sau din epiteliul vaginal. Se colorează intens cu cresyl violet şi dă o reacţie Feulgen pozitivă.

Cromatina sexuală ocupă în nucleu poziţii variate, în funcţie de tipul de celulă. Ea poate fi situată pe faţa internă a membranei nucleare, ataşată de nucleol sau liberă în carioplasmă. La acelaşi tip de celulă, ea are o localizare precisă; de exemplu, în celulele epidermului şi ale mucoasei bucale este situată pe membrana nucleară, la celulele nervoase normale este ataşată de nucleol, în timp ce la aceleaşi celule după stimulare este liberă în nucleoplasmă.

Privită din faţă cînd este situată în vecinătatea membranei nucleare, are o *formă plan convexă*, cu faţa plană pe membrana nucleară, iar cînd este privită din profil, are formă triunghiulară. Atunci cînd cromatina sexuală este situată în masa corioplasmatică sau lîngă nucleol, poate avea o formă discoidală sau sferică, sau un contur neregulat. La aceste forme se adaugă şi forma de spirală sau de literă L sau S. De foarte multe ori este greu de făcut o distincţie netă

Scanned with OKEN Scanner

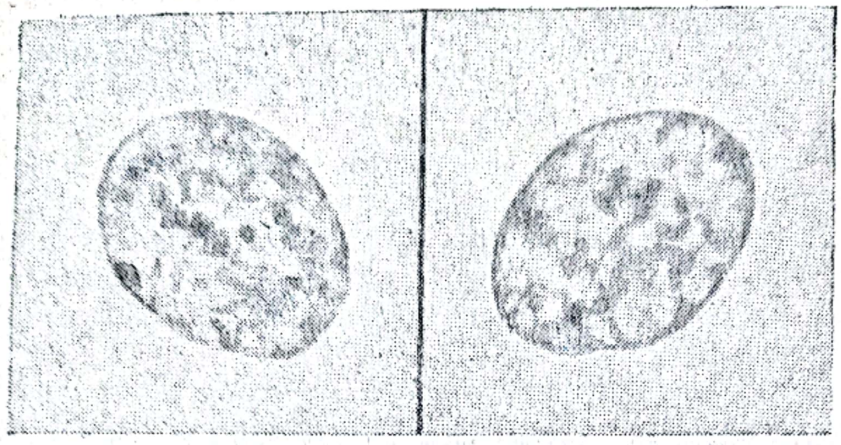


Fig. 28. Cromatina sexuală:
A — Celula somatică de sex feminin cu cromatina sexuală; B — celula somatică de sex masculin fără cromatină sexuală.

între corpusculii Barr şi cromocentrii mari la celulele cu nuclei intens cromatici şi care prezină mari dificultăţi în demonstrarea cromatinei sexuale. În general, conţinutul corpusculilor Barr este dens şi omogen ca aspect. În anumite tipuri de celule s-a descris în centrul corpusculului o mică zonă clară care împarte corpusculul în două particule rotunjite sau alungite, sugerînd o structură biparticulată.

Dimensiunea corpusculului Barr este apreciată în jur de un micron. Ea variază în funcţie de tipul de celulă şi în legătură directă cu substratul ei morfologic. În condiţii experimentale s-au descris corpusculi Barr hipertrofiaţi prin edematiere (în timpul cromatolizei substanţei Nissl din neuronii motori) sau corpusculi Barr mai mici (după administrare de antibiotice). Variaţiile de mărime pot fi atribuite şi manoperelor din tehnica de preparare; în acest sens, fixatorii şi coloranţii contractă cromatina sexuală, deci îi micşorează volumul.

Studiile la microscopul electronic făcute pe celulele cu nuclei clari din corticosuprarenala de pisică au dovedit că, din punct de vedere ultrastructural, cromatina sexuală are o structură asemănătoare heterocromatinei.

Substratul morfologic ce stă la baza corpusculului Barr este cromozomul X heterocromatic la nivelul căruia filamentele de cromatină sînt puternic spiralizate.

Numărul corpusculilor Barr este dat de numărul cromozomilor X heterocromatici, care este egal cu 1 în nucleii celulelor de sex feminin, cu un complement diploid de cromozomi. Deci, toţi nucleii de sex feminin cu 2n cromozomi au un singur corpuscul Barr. Această valoare este semnificativă şi utilizată ca marker citologic important în determinarea sexului.

S-au întîlnit celule cu mai mulţi corpi Barr, care au sugerat că în anumite situaţii există mai mult de un cromozom X heteropicnotic în cariotip. Excesul de cromozomi X poate fi datorit unei poliploidii (mai multe seturi cromozomiale 4n sau 8n), sau unei aneuploidii (mai mulţi cromozomi X în nucleul diploid

Scanned with OKEN Scanner

2n). Aneuploidia cu mai mulţi cromozomi X caracterizează o serie de boli congenitale însoţite de diferite anomalii somatice. Evidenţierea cromozomului X heteropicnotic constituie deci şi o probă de valoare clinică.

Importanţa funcţională a *fenomenului de heterocromazie a cromozomului X* a fost studiată în special de L y o n. El sugerează că stadiul de condensare şi spiralizare al unuia dintre cromozomii X corespunde inactivării lui, fenomen cunoscut sub numele de lyonizare. În ipoteza lui Lyon, toate genele heterocromozomului X sînt inactive. Înactivarea acestui cromozom se face după a 14-a zi a dezvoltării embrionului uman, sugerînd că cromozomul X pînă la această vîrstă joacă rol în procesele de diferenţiere ale celulelor somatice. Inactivarea genetică a heterocromozomului X după această vîrstă este însoţită de suprimarea capacităţii lui de a sintetiza ARN. Heteropicnoza cromozomului X se pare că stă la baza dozajului de compensaţie care echilibrează diferenţele genetice dintre individul XX şi XY. Prin fenomenul de lyonizare, genele rămîn active numai pe unul din cromozomii X la ambele sexe.

Cromatina sexuală a fost demonstrată şi la nivelul leucocitelor din sîngele periferic. D a v i d s o n şi S m i t h (1954) au atras atenţia asupra unui corpuscul cromatinian ataşat la nucleul leucocitelor neutrofile printr-un peduncul. Corpusculul de cromatină împreună cu pedunculul a fost denumit de autori *drum-stik* (băţ de tobă). Are un diametru de 1,5 microni, se colorează cu aceiaşi coloranţi ca şi cromatina sexuală şi poate fi demonstrată la toate tipurile de leucocite, dar în condiţii foarte bune numai la neutrofile. În medie, această formaţiune de la nivelul neutrofilelor este reprezentată în proporţie de 1 corpuscul la 38 de neutrofile (2,9%) la sexul feminin şi este total absentă la sexul masculin. Numai proporţia amintită are valoare de diagnostic, incidenţa mai rară nu este semnificativă. În afară de nodulii pedunculaţi s-au mai descris şi corpusculi sau noduli sesili alipiţi de faţa externă a membranei nucleare cu aceeaşi semnificaţie.

Atît corpusculii Barr cît şi drum-stiks-urile reprezintă în concluzie persistenţa în interfază a celui de-al doilea cromozom X sau a cromozomilor X supranumerari.

INCLUZIUNILE NUCLEARE

În nucleii intercinetici putem întîlni corpi străini sau particule de citoplasmă ce migrează în nucleu şi care apar înconjurate de carioplasmă, fără să reprezinte structuri permanente ale nucleului. La microscopul fotonic s-au descris încă de multă vreme *corpii eozinofili* ce par să reprezinte diferite structuri citoplasmatice organizate în mici vezicule sau particule de densităţi diferite. Microscopul electronic a confirmat prezenţa acestor formaţiuni, formate din resturi de mitocondrii, reticul endoplasmic, substanţe chimice diferite etc. Au fost observate de asemenea incluzii de *glicogen* sau granule de *secreţie celulară*.

Cel mai adesea, incluziile nucleare traduc o suferinţă a celului şi au o semnificaţie de diagnostic. De exemplu: picăturile lipidice sînt în special abundente

în intoxicaţiile severe. În anumite boli metabolice s-au descris la nivelul limfocitelor şi al plasmocitelor apariţia de mici vacuole intranucleare sau de corpi denşi. O semnificaţie de diagnostic o au în special *incluziile virale*, aşa-numiţii corpi de incluzie encefalitici, a căror apariţie este în directă legătură cu virulenţa diferiţilor viruşi. Aceşti corpi sînt reprezentaţi la nivelul nucleului prin formaţiuni cristaloide şi consideraţi ca un semn precoce de degenerescenţă celulară. Ei se asociază de obicei cu mărirea de volum a nucleului, heterocromazia membranei nucleare şi degenerarea carioplasmei manifestată prin aglomerarea histonelor, lipoproteinelor şi aminoacizilor izolaţi.

CROMOZOMII

Cromozomii reprezintă o formă perfect organizată de cromatină nucleară specializată pentru funcţia de depozitare şi transmitere a informaţiei genetice, care apar foarte clar în timpul diviziunii celulare. Conţinînd un material ordonat şi reproductibil, cromozomii sînt consideraţi astăzi structuri permanente ale nucleului a căror morfologie prezintă o importanţă deosebită pentru citologia descriptivă şi în special pentru citogenetică. Particularităţile lor morfologice sînt cel mai bine observate în timpul cinezei şi îndeosebi în metafază, stadiu în care ei ajung la un grad de condensare maximă apărînd sub forma unor structuri compacte cu un contur bine definit, capabile să fie distribuite în mod egal de-a lungul procesului de diviziune celulară.

Morfologia cromozomilor se studiază pe ţesuturile în care se petrec intense procese de proliferare celulară (testicul) sau pe culturi de celule in vitro. Cromozomii se colorează intens cu coloranţi nucleari, inclusiv orceina, tionina şi cristal-violet, şi datorită conţinutului lor în ADN se evidenţiază foarte bine prin reacţia Feulgen.

La microscopul fotonic, cromozomii apar ca nişte formaţiuni bacilare. Ei sînt alcătuiţi din două subunităţi alungite şi paralele, omogene ca structură, numite *cromatide*.

Cele două cromatide care alcătuiesc un cromozom se unesc într-un punct prin inserţia lor pe o formaţiune rotunjită de circa 3 microni, numită *centromer sau cinetocor*. Datorită faptului că centromerul nu se colorează cu coloranţi bazici, el oferă aspectul unei constricţii, aşa-numita constricţie primară a cromozomului. După poziţia centromerului (fig. 29), cromozomii se împart în trei grupe: *cromozomi metacentrici*, care prezintă centromeri în mijlocul cromozomilor, divizîndu-i în părţi egale; *cromozomi submetacentrici*, cu centromerul situat alături de zona mediană; *cromozomi acrocentrici*, la care centromerul este aproape de extremitate, divizînd cromozomul în două părţi inegale, una scurtă, iar alta lungă. Poziţia centromerului la nivelul cromozomului este fixă, ceea ce face ca ea să fie considerată un indice de valoare în identificarea şi individualizarea cromozomilor. Obişnuit, există un singur centromer pentru fie-

Scanned with OKEN Scanner

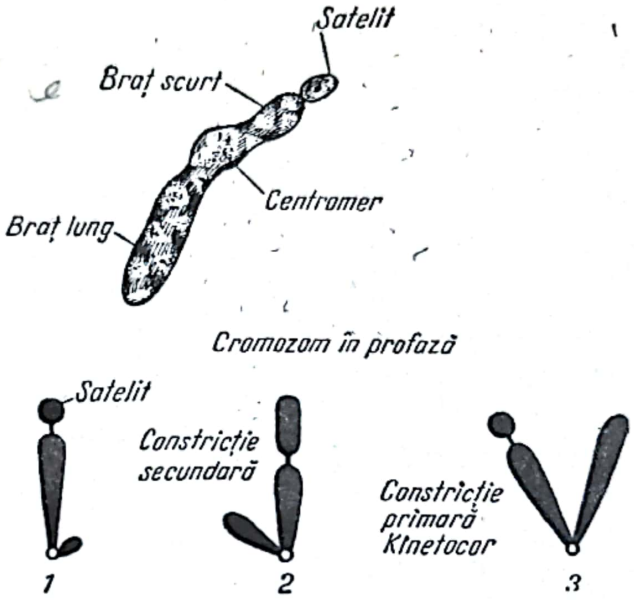


Fig. 29. Tipuri de cromozomi:
1 — cromozom acrocentric; 2 — cromozom submetacentric; 3 — cromozom metacentric.

care cromozom, deci cromozomii sînt în general monocentrici. Pot exista însă şi cromozomi dicentrici sau policentrici, întîlniţi în special în anomaliile cromozomilor produse ca efect al razelor X.

În afară de centromeri, la nivelul cromatidelor s-au mai descris şi alte zone care nu reţin coloranţii bazici. Aceste zone sînt mai mici decît centromerii şi se numesc *alisterozone sau constricţii secundare*. Ele au o poziţie şi o extindere constantă pentru acelaşi cromozom şi constituie încă un criteriu de individualizare a lor. H e i t z a denumit cromozomii cu constricţii secundare cromozomi SAT *(sine acido timo nucleinico)*, deoarece în aceste zone nu s-a putut demonstra ADN prin metode obişnuite de colorare. Se pare că aici se organizează nucleolii în timpul fazei postmitotice. O lipsă de coloraţie a cromozomilor de aspect similar se remarcă la unii cromozomi în condiţii experimentale (în urma expunerii lor la frig). Această reacţie a fost denumită *heteropicnoză negativă* (D a r l i n g t o n, 1940).

În afară de zonele cu heteropicnoză negativă, cromozomii prezintă şi zone de heteropicnoză pozitivă, denumite *heterocromatice*. Ele sînt acele zone din cromozomi care apar mai puternic colorate în raport cu restul cromozomului. Segmentele heterocromatice apar de multe ori în vecinătatea constricţiilor primare sau secundare. Zonele heterocromatice nu sînt structuri constante ca celelalte structuri cromozomiale. În anumite condiţii, o zonă anumită din cromozomi poate fi heterocromatică, pentru ca în alte condiţii, aceeaşi zonă să devină acromatică (alociclu). Experimental, razele ionizate formează multiple zone heterocromatice reversibile.

Extremitatea cromozomilor poartă numele de *telomer*. La acest nivel, capetele cromatidelor par să fie rotunjite, iar cercetări genetice arată că telomerii prezintă proprietăţi genetice specifice. Niciodată contopirea cromozomilor fracturaţi nu se realizează la acest nivel. Adesea, telomerii sînt heterocromatici, aspect ce sugerează participarea lor la conservarea individualităţii cromozomilor.

Scanned with OKEN Scanner

Sateliţii nucleari sînt formaţiuni corpusculare separate de cromozomi, de care rămîn uniţi prin filamente mai lungi sau mai scurte; după dimensiunea lor, ei pot să fie *sateliţi mari* şi *sateliţi mici*. Se alipesc fie de braţele lungi, fie de braţele scurte ale cromatidelor, întotdeauna în acelaşi mod pentru un anumit cromozom.

Numărul cromozomilor este diferit în funcţie de specie. Cercetări efectuate asupra diferitelor tipuri de celule somatice umane au semnalat prezenţa unui număr de 46 de cromozomi. Întrucît zigotul din care iau naştere celulele somatice rezultă din unirea celor doi gameţi, înseamnă că 23 de cromozomi provin din ovul, iar 23 din spermatozoizi.

Celulele germinale care conţin un singur set de cromozomi (n) se numesc haploide, în timp ce celulele somatice care conţin două seturi de cromozomi (2n) se numesc diploide. Numărul de cromozomi din seturile haploide este caracteristic pentru fiecare specie, reprezentînd o constantă de valoare care serveşte la determinarea poziţiei filogenetice a diferitelor specii. Pe scară filogenetică, cel mai mic număr de cromozomi îl au nematodele (un cromozom în setul haploid), iar numărul cel mai mare protozoarele din grupul „agregata", care au peste 300 de cromozomi.

Mărimea cromozomilor este variabilă. Cei mai mari cromozomi se găsesc în celulele glandelor salivare ale dipterelor, iar cei mai mici cromozomi sînt conţinuţi în fungi şi scapă puterii de rezoluţie a microscopului luminescent (cromozomi invizibili). Mărimea cromozomilor omologi din setul diploid este întotdeauna egală. La om, cei mai mici cromozomi au circa 1 micron lungime, iar cei mai mari 10 microni. Grosimea lor este de circa 0,3 microni.

Caracterele morfologice de mărime şi de număr particulare pentru un set cromozomial haploid dintr-o garnitură somatică diploidă alcătuiesc *cariotipul*. Cariotipul este caracteristic pentru fiecare specie şi poate fi reprezentat printr-o cariogramă în care perechile de cromozomi omologi sînt aranjate în ordine descrescîndă şi după diferenţierile longitudinale amintite.

Structura cromozomului. Cercetări asupra cromozomilor la microscopul fotonic au arătat că fiecare cromatidă este formată dintr-un filament spiralat numit *cromonema* (V e j d o v s k y, 1912). Numărul şi mărimea spirelor în cromozomi sînt variabile şi strîns legate de lungimea cromozomului. Cînd cromozomul este lung şi mai puţin condensat, spirele sînt mici şi mai dese, iar cînd cromozomul este scurt şi puternic condensat, spirele au un diametru mai mare şi sînt mai rare. Faza de spiralizare a cromonemei este caracteristică mitozei, iar cea de despiralizare şi întindere a fibrelor este caracteristică intercinezei. Aceste faze se succedă şi constituie ciclul de spiralizare al cromonemei. Cînd în intercineză anumite segmente din cromozomi nu se despiralizează ele alcătuiesc heterocromatina.

Cromozomii giganţi sînt un tip special de cromozomi aflaţi în atenţia citogeneticienilor. Pe aceşti cromozomi s-a putut demonstra prezenţa unor accidente topografice ce par să corespundă genelor şi s-a putut sugera modul lor de funcţionare. Din categoria cromozomilor giganţi fac parte *cromozomii politeni*, care

Scanned with OKEN Scanner

se găsesc la larvele dipterelor, şi *cromozomii în perie de lampă,* din ovocitele de amfibii.

Cromozomii politeni descrişi în special în glanda salivară în *Drosophila melanogaster* (B a l b i a n i, 1881) au o grosime de 25 de microni şi o lungime de 300 microni. Remarcabila lor mărime este atribuită de B e e r m a n (1962) numărului mare de cromoneme (politenie). Cromonemele sînt vizibile la microscopul obişnuit sub forma unor fibrile spiralate. Fiecare fibrilă prezintă de-a lungul ei benzi mai dense, situate la acelaşi nivel unele lîngă altele în toate filamentele (fig. 30). Simultan, la un moment dat pe o porţiune, fibrele se pot separa unele de altele, iar la nivelul benzilor cromozomiale se pot observa zone de despiralizare a fibrelor (fig. 30), care ies din cromozomi (puffs-uri). Atîta timp cît benzile sînt dense, se colorează cu coloranţi bazici şi sînt Feulgen-pozitive, iar în momentul în care fibrilele cromozomiale se separă în puffs-uri, ele devin Feulgen-negative. Albastru de toluidină care colorează diferenţiat acizii nucleici (acidul ribonucleic în roşu-violet şi acidul dezoxiribonucleic în albastru-deschis) evidenţiază în roşu puffs-urile şi în albastru benzile întunecate ale cromozomului, ceea ce înseamnă că fibrilele întinse de la nivelul puffs-urilor reprezintă regiuni în care există o activitate intensă de formare a ARN (M e c h e l k e, 1963).

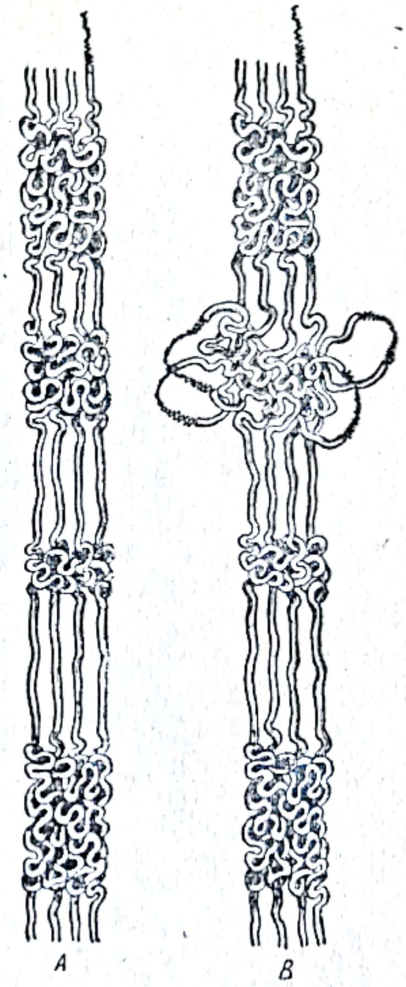


Fig. 30. Structura cromozomilor politeni (Du Praw):
a — Model de dispunere a fibrilelor în benzile întunecate şi clare ale cromozomilor politeni;
b — Formarea pufs-urilor.

Cromozomii în perie de lampă descrişi de R ü c k e r t (1892) în meioza ovocitelor amfibiene sînt mai largi decît cromozomii politeni. Ei prezintă un ax central şi procese laterale fine care înconjură axul central. Fibrilele din proiecţiile laterale pot fi parţial întinse şi la acest nivel au loc procese asemănătoare celor observate la cromozomii politeni. Axul cromonemelor este Feulgen-pozitiv, în timp ce proiecţiile laterale conţin în special ARN.

Ultrastructura cromozomilor. Întrucît secţiunile prin cromozomi nu pot cuprinde decît o mică suprafaţă din cromozomi, pentru elucidarea structurii lor fine s-a folosit metoda dispersării cromozomilor pe interfaţa aer-apă. Metoda dispersării cromozomilor confirmă structura lor fibrilară, arătînd că ei sînt formaţi predominent din fibrile de circa 200 Å, care se plicaturează de mai multe ori pe plan longitudinal şi transversal (fig. 31) pentru a forma corpul cromatidei.

Plicaturarea fibrilelor de 200 Å (complexe ADN — histone) este realizată de mici fibrile de circa 30 Å, care par să reprezinte proteine acide contractile. Aceleaşi fibrile se bănuieşte că intervin şi în extinderea fibrilelor ADN-histonice din eucromatina nucleului intercinetic (W o l f e. 1965). Fibrilele interco-

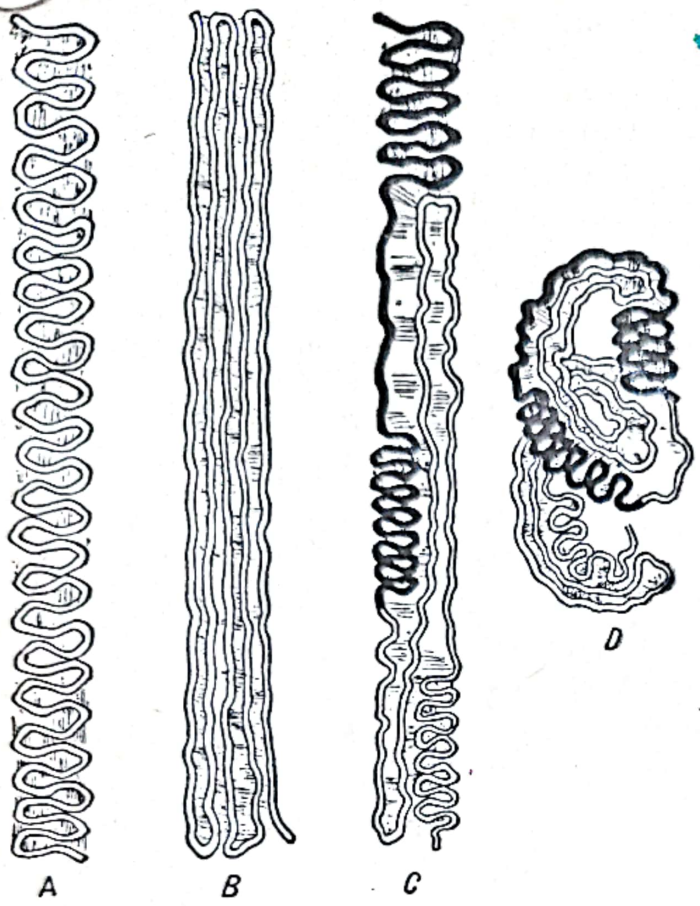


Fig. 31. Schemă arătînd modalităţile de plicaturare a fibrilei de cromatină în cromozom:
A — plicaturare transversală; B — plicaturare longitudinală; C — plicaturare combinată; D — structură cauternară.
(Du Praw)

nectante pot fi observate după tratamentul materialului cromozomial cu DN-ază, RN-ază, precum şi după îndepărtarea histonelor şi a proteinelor acide solubile. Ele nu pot fi îndepărtate decît prin tratarea cu soluţii saline şi se consideră că reprezintă proteina reziduală.

Spiralizarea puternică a fibrilelor ADN-proteice începînd de la filamentul de 30 Å şi pînă la cromatidă poate fi privită ca o structură cuaternară a ADN cromatinian (Du Praw, 1966).

În ceea ce priveşte ultrastructura cromozomilor giganţi de la *Drosophila* s-a arătat că benzile transversale dense la fluxul de electroni şi Feulgen-pozitive sînt regiuni în care fibrilele de bază (100—300 Å) sînt puternic încolăcite (aspect similar cu cel observat în cromozomii din timpul diviziunii). La nivelul benzilor luminoase, fibrilele sînt mai puţin spiralate. Structura puffs-urilor poate fi urmărită pe figura 30, pe care se vede clar că fiecare fibrilă de circa 200 Å poate oferi un segment de iniţiere a sintezei de ARN.

Cromozomii ovocitelor de *Necturus*, numiţi şi cromozomi în perie de lampă, prezintă un lanţ central de ADN, din care sînt proiectate în afară numeroase filamente la nivelul cărora se poate iniţia biosinteza ARN.

Cariotipul uman. Primele cercetări asupra cariotipului uman iniţiate de Flemming la sfîrşitul secolului trecut (1898) au fost continuate de Winiwarter (1912) şi de Painter (1921), care au susţinut că la om cariotipul prezintă un număr de 48 de cromozomi în celulele somatice şi 24 în celulele germinale. Ca atare, această valoare a fost admisă pînă în 1956, cînd Tjio şi Levan, utilizînd tehnici speciale, arată că omul are 46 de cromozomi, în celulele somatice, şi 23 în gameţi.

Din cei 23 de cromozomi ai celulei germinale, 22 de cromozomi sînt cromozomi somatici sau autozomi, iar un cromozom care este responsabil de determinarea sexului este cromozomul sexual. Ovulele au invariabil un cromozom sexual denumit X, în timp ce spermatozoizii pot prezenta fie un cromozom X, fie un cromozom deosebit ca aspect de cromozomul X, denumit cromozomul Y.

Scanned with OKEN Scanner

Fig. 32. Cromozomi umani în metafază.

Pentru studierea cromozomilor umani se folosesc în special culturi de celule provenite din sistemul hematopoetic (măduvă osoasă, sînge circulant), în care mitozele sînt frecvente. Celulele sînt expuse într-un timp preliminar la acţiunea colchicinei, substanţă dotată cu proprietatea de a inhiba formarea fusului mitotic şi de a favoriza acumularea de figuri metafazice cele mai potrivite pentru studiul morfologic al cromozomilor (v. *Diviziunea celulei*). Ulterior, celulele sînt tratate cu soluţii hipotone (şocul hipoton), care produc umflarea nucleilor şi dispersiunea cromozomilor (fig. 32). O dată dispersaţi, cromozomii se pot izola şi clasifica într-o anumită ordine.

Sistemul de clasificare al cromozomilor umani a fost stabilit de o conferinţă de citogenetică organizată la Londra, 1964. În conformitate cu această clasificare, cromozomii somatici (autozomi) sînt aranjaţi în ordinea mărimii descrescînde, de la 1 la 22. Se realizează în felul acesta o cariogramă, în care recunoaşterea fiecărei perechi de cromozomi se face după mărime, poziţia centromerului, constricţii secundare, sateliţi etc. În cariogramă, cromozomii sînt împărţiţi în 7 grupe, fiecare grupă cuprinzînd două sau mai multe perechi de cromozomi. Ele au fost numerotate de la 1 la 7. În clasificarea lui P a t a u, cele 7 grupe sînt însemnate cu primele litere ale alfabetului.

Grupa I sau grupa A cuprinde primele trei perechi de cromozomi, de la 1—3, cromozomi mari, metacentrici.

Grupa II sau grupa B cuprinde perechile 4 şi 5 de cromozomi mari submetacentrici.

Grupa III, grupa C, cuprinde 7 perechi de cromozomi (6—12) mijlocii, cu centromerul submetacentric.

Grupa IV, grupa D, cuprinde trei perechi de cromozomi (13—15) mijlocii, cu centromerul acrocentric. În acest grup, perechea 14 şi 15 are pe aceleaşi braţe sateliţi mici.

Grupa V, grupa E, cuprinde trei perechi de cromozomi (16—18) mici cu centromerul aproape median la perechea 16 şi submedian la perechea 17, care uneori prezintă sateliţi pe braţul scurt.

Grupa VI, grupa F, cuprinde două perechi de cromozomi (19—20) mici, cu centromerul aproape median.

Grupa VII, grupa G, cuprinde două perechi de cromozomi (21—22) foarte mici, acrocentrici. Cromozomul 21 are satelit mic pe braţul scurt.

În afară de dimensiune, poziţia centromerului şi sateliţii caracteristici pentru anumite perechi, cromozomii somatici pot fi identificaţi şi după constricţiile secundare. De exemplu, cromozomii din perechea 6 au o constricţie pe braţul scurt, cei din perechile 9 şi 11 au constricţii pericentrice, iar cromozomul 17 are constricţii pe braţele lungi.

Perechea de cromozomi sexuali (gonozomi) este separată. La om, sexul feminin are o pereche de cromozomi sexuali identici — cromozomi XX (fig. 33 A) iar la sexul masculin perechea de cromozomi sexuali este reprezentată prin doi cromozomi deosebiţi — cromozomii XY (fig. 33 B). Numeroase dovezi atestă că sexul feminin este determinat de cromozomul X, iar cromozomul Y determină sexul masculin. Dacă în cariotip există un cromozom Y şi mai mulţi cromozomi X, individul prezintă caractere de bărbat, iar pe de altă parte, un individ căruia îi lipseşte cromozomul Y va prezenta caractere somatice specifice femeii.

Cromozomii sexuali, conform cercetărilor citogenetice recente, pot fi încadraţi în cariotip în diferite grupe. Cromozomii X se pot încadra în grupa III; ei sînt asemănători cu cromozomii din perechea 6, iar cromozomul Y poate fi încadrat în grupa VII, avînd caractere comune cu cromozomii din perechea 21. Cariotipul femeii prezintă deci în grupa a III-a în loc de 14 cromozomi (7 perechi) un număr de 16 cromozomi, iar cariotipul bărbatului are 15 cromozomi în grupa III şi, în loc de 4, are 5 cromozomi în grupa VII. Dacă cromozomii X nu se disting de cromozomii perechii a 6-a, cromozomul Y este uşor de recunoscut, fiind mai mare decît micii acrocentrici din perechea 21 şi braţele lui mici, mai scurte decît a celor din urmă. El nu prezintă constricţie secundară pe braţul lung şi nu are sateliţi (Conferinţa de la Londra, 1964).

Studiul cariotipului are o importanţă deosebită în stabilirea bolilor ereditare care au la bază anomalii cromozomiale. Efectuarea cariogramei a devenit o tehnică fundamentală nu numai în biologie, dar şi în patologie.

Anomalii ale cariotipului. Anomaliile cromozomiale pot fi împărţite în două mari grupe: *anomalii numerice şi anomalii de morfologie cromozomială.*

Anomaliile numerice sînt cele mai des întîlnite, putînd interesa numărul de seturi cromozomiale sau numai anumiţi cromozomi. Cînd numărul seturilor haploide este mai mare de cifra 2, vorbim de *poliploidie* (triploidie, tetraploidie, pentaploidie etc.), iar cînd numărul de cromozomi dintr-un set haploid este modificat faţă de setul omolog, vorbim de *heteroploidie*. În unele cazuri, heteroploidia se produce prin lipsa unui cromozom, iar în altele, printr-un cromozom în plus. Heteroploidia se referă atît la perechile de autozomi, cît şi la perechile de gonozomi.

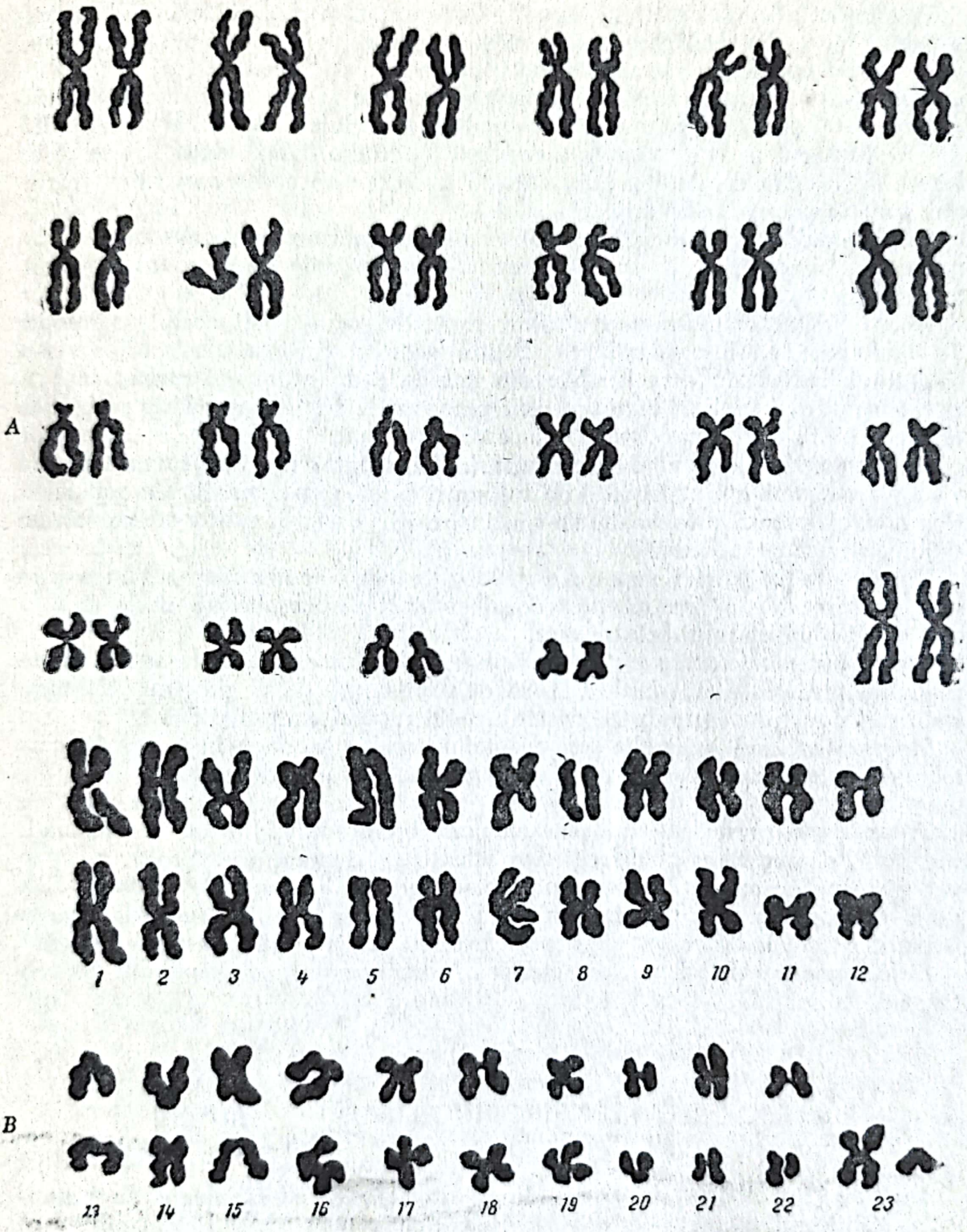


Fig. 33.
A — cariotip uman de sex feminin.
B — Cariotip uman de sex masculin.

Poliploidia este observată în aproape toate organismele. Nucleii celulelor parenchimatoase din ficat care pînă la naştere sînt diploizi, după naştere cei mai mulţi devin poliploizi (tetraploizi, octaploizi). Acelaşi fenomen se întîlneşte în mod normal şi la nivelul celulelor gigante din măduva osoasă a omului. Ca fenomen patologic, poliploidia este semnalată în celulele tumorilor maligne în directă legătură cu o intensitate a creşterii tumorale. Poliploidizarea este strîns legată de funcţia celulară şi apare ori de cîte ori este necesar mai mult material genetic pentru activităţile celulelei.

Heteroploidia se manifestă prin lipsa unui cromozom — monosomie — sau printr-un cromozom în plus — trisomie — la perechile de cromozomi sexuali sau somatici.

Heteroploidia cromozomilor sexuali se întîlneşte în boli ereditare însoţite de sindroame de intersexualitate. Dintre acestea, cel mai des întîlnite sînt sindromul Turner, în care lipseşte din perechea de gonozomi cromozomul Y, şi sindromul Klinefelter, care are un cromozom X suplimentar la perechea de gonozomi XY.

Heteroploidia autozomilor în minus (monosomiile) nu sînt compatibile cu viaţa, iar trisomiile sînt însoţite de tulburări psihice şi anomalii ale organelor. Cea mai cunoscută este boala Down, la care în cariotip există un cromozom suplimentar la perechea 21.

După T u r p e n şi L e j e u n e (1965), la baza anomaliilor organice care însoţesc trisomiile ar sta un supradozaj genetic, responsabil de unele modificări ale metabolismului celular.

Anomaliile morfologice ale cromozomilor cuprind următoarele variante: inversiunea, translocaţia, duplicaţia şi deleţiunea. Trebuie precizat că toate anomaliile de formă presupun existenţa unei rupturi a cromatidelor.

Inversiunea este anomalia cromozomială ce se produce în cazul în care segmentele rupte din cromozomi se resudează în ordine inversă aşezării iniţiale.

Translocaţia presupune un rearanjament cromozomial în care segmentele rupte din doi cromozomi diferiţi sînt schimbate şi reunite reciproc.

Duplicaţia cromozomilor este un fenomen întîlnit în special la cromozomii Y de la *Drosophila,* care prezintă un segment de cromozom în plus şi la care se pot urmări efectele acestor segmente care aduc un aport suplimentar de gene.

Deleţiunea sau deficienţa, caracterizează cromozomul care a pierdut un segment de cromatidă.

FUNCŢIILE NUCLEULUI

De timpuriu, observaţiile de ordin morfologic şi citofiziologic au permis să se stabilească că pe parcursul întregului ciclu celular nucleul se manifestă ca un *coordonator* al proceselor celulare fundamentale. Cercetările moderne au dovedit că acest rol se bazează pe: a) capacitatea de a stoca informaţia genetică cu privire la planul general de organizare a structurilor celulare şi de a transmite

această informaţie generaţiilor succesive de celule — funcţia genetică; b) pe proprietatea de transcriere a informaţiei genetice în molecule care sînt apoi transmise în citoplasmă pentru a servi drept matrice în sinteza de proteine — *funcţia metabolică*. Prin această ultimă funcţie, nucleul iniţiază şi dirijează activitatea metabolică a celulelor.

Începînd cu studiile iniţiate de Avery, McLeod şi McCarty (1944), nenumărate cercetări au dovedit că informaţia genetică a fiecărei celule este depozitată în ADN-nuclear. După ce s-a stabilit rolul genetic al ADN conţinut în carioplasmă, două probleme s-au cerut lămurite: 1) prin ce mecanism este *depozitată* informaţia genetică în ADN; 2) cum poate fi *transmisă* această informaţie: a) la sediul sintezei de proteine pentru a determina particularităţile morfofuncţionale ale celulei; b) celulelor-fiice — pentru a asigura transmiterea caracterelor ereditare. Aceste probleme au putut fi înţelese o dată cu descrierea *structurii moleculare* a acizilor nucleici de către Watson şi Crick (1953). Moleculele de ADN sînt astfel alcătuite, încît în ele pot fi cuprinse totalitatea informaţiilor cu privire la planul de organizare a structurilor celulei. Aceste informaţii sînt *stocate* în moleculele de ADN *întocmai ca într-un cod informaţional* (al teoriei informaţiei). După cum se ştie, *în conformitate cu teoria informaţiei*, cuvintele au sensuri diferite, nu numai pentru că ele au litere diferite, ci şi pentru că aceleaşi litere pot fi folosite în cuvinte, *în secvenţe* diferite. Structura moleculară a ADN este în stare să depoziteze informaţia genetică sub forma unor *secvenţe de nucleotide*. Acestea joacă un rol de „litere chimice", înscriind cuvinte de-a lungul catenelor de ADN. Aşa cum am văzut anterior, moleculele de ADN constau din două catene paralele care formează un helix dublu. Fiecare catenă este constituită din asamblarea unor mici molecule de dezoxiribonucleotide. Întrucît acidul fosforic şi dezoxiriboza sînt componente constante, informaţia genetică este înscrisă cu ajutorul celor patru baze (adenina, timina, guanina şi citozina), care pot prezenţa o secvenţă variabilă şi care, conform teoriei informaţiei, capătă semnificaţie de litere cu care se pot scrie cuvinte. Aceste cuvinte vor specifica ordinea aminoacizilor care intră în structura lanţurilor polipeptidice ale proteinelor. Secvenţa aminoacizilor dintr-o anumită proteină (care imprimă proprietăţile fizice, chimice şi biologice ale proteinelor) va fi determinată de ordinea după care sînt înşiruite nucleotidele în ADN-nuclear ce coordonează sinteza proteinei respective. Corespondenţa care există între înlănţuirea nucleotidelor în ADN şi înşiruirea aminoacizilor în lanţurile polipeptidice constituie *codul genetic*. În termenii teoriei informaţiei, codul genetic reprezintă gramatica unei limbi în care cu ajutorul unui alfabet cu patru litere chimice (cele patru baze nucleotidice) se pot exprima 20 de cuvinte cu semnificaţii deosebite şi distincte (cei 20 de aminoacizi utilizaţi în sinteza proteinelor celulare). Se crede că cuvîntul de cod capabil să specifice un aminoacid în lanţul polipeptidic este alcătuit din trei litere, iar această unitate a fost denumită *triplet sau codon*. În ipoteza codonului format din trei perechi de baze se va putea codifica 4^3, deci *64 de codoni*, ce pot specifica 64 de aminoacizi. Întrucît nu există decît 20 de aminoacizi, 44 de codoni par să fie excedentari.

Segmentele de ADN responsabile de sructura lanţurilor polipeptidice au fost denumite *gene*. Totalitatea genelor din moleculele de ADN constituie *ge-*

Scanned with OKEN Scanner

nomul, iar *mesajul genetic* poate fi definit ca întreaga cantitate de informaţie genetică cuprinsă într-un genom. La noţiunea de genă, Benzer a introdus termenul de *cistron*, arătînd că orice genă poate fi subdivizată în unităţi de funcţie elementare. Macromoleculele purtătoare de informaţie genetică păstrează depozitată în structura lor toate detaliile necesare atît pentru organizarea unor structuri specifice, cît mai ales pentru sintetizarea unor enzime specifice. Cu urmare a formării unor astfel de structuri şi a sintezei unor astfel de enzime, informaţia genetică înscrisă de-a lungul moleculei de ADN determină un tip de metabolism particular pentru un anumit grup de celule. Concepţia despre felul în care genomul influenţează metabolismul celular pe plan genetic a fost dezvoltat de Jacob şi Monod (1961). Autorii sugerează că genomul este organizat în unităţi operaţionale denumite *operoni* şi dintr-o regiune genetică situată în vecinătatea lor, numită *operator*. Operonii guvernează sinteza mai multor proteine şi ei sînt alcătuiţi din una sau mai multe *gene structurale*, fiecare din ele responsabilă de sinteza unei anumite proteine. Activitatea genelor structurale este determinată de starea de funcţionalitate a operatorului; atîta timp cît operatorul este funcţional, ele sînt active. Se susţine că operatorul reprezintă regiunile din ADN în care se iniţiază biosinteza moleculei de ARN-mesager (regiune bogată în citozină şi guanină). Această organizare a genomului este completată de existenţa altor regiuni, responsabile de sinteza de ARN-ribozomal şi a ARN de transfer, care sînt efectorii destinaţi să descifreze şi să traducă în proteine mesajul genetic adus de la genă la citoplasmă prin ARN-mesager format la nivelul genelor de structură din operon.

Informaţia genetică înscrisă în moleculele de ADN graţie capacităţii *de replicare* a ADN poate fi transmisă de-a lungul a două căi separate: pe de o parte, celulelor-fiice, asigurînd în felul acesta *specificitatea caracterelor ereditare*, iar pe de altă parte este *transmis în citoplasmă*, determinînd *specificitatea structurilor celulare*. Se poate trage concluzia deci că genele sînt în acelaşi timp purtătoare ale caracterelor ereditare şi elemente ale funcţiei celulare.

Informaţia genetică este transmisă de-a lungul generaţiilor de celule prin *funcţia autocatalitică* a macromoleculelor de ADN, respectiv cea de formare de noi molecule de ADN. Biosinteza moleculelor de ADN se face printr-un mecanism semiconservativ, fiecare din cele două lanţuri care servesc drept tipar, fiind incluse în noile molecule de ADN. Dublarea ADN nu este numai cantitativ riguroasă, ci este riguroasă şi calitativ. Moleculele nou formate vor prezenta aceeaşi secvenţă a nucleotidelor ca şi cea prezentă în moleculele parentale, deoarece biosinteza noilor molecule se face pe baza complementarităţii bazelor. Întotdeauna în dreptul unei adenine apare o timidină, iar în dreptul unei citozine apare o guanină. Pentru dublarea ADN, nucleul în interfază are nevoie de: baze purinice şi pirimidinice, de fosfaţi, dezoxiriboză şi ADN-polimerază. O parte din aceste substanţe sînt furnizate de citoplasmă. Absenţa uneia din substanţele necesare elaborării noilor molecule de ADN duce la modificări în înlănţuirea nucleotidelor, deci la un tip de ADN anormal. Molecula de ADN îşi păstrează totuşi capacitatea de autoreproducere,

Scanned with OKEN Scanner

nomul, iar *mesajul genetic* poate fi definit ca întreaga cantitate de informaţie genetică cuprinsă într-un genom. La noţiunea de genă, Benzer a introdus termenul de *cistron*, arătînd că orice genă poate fi subdivizată în unităţi de funcţie elementare. Macromoleculele purtătoare de informaţie genetică păstrează depozitată în structura lor toate detaliile necesare atît pentru organizarea unor structuri specifice, cît mai ales pentru sintetizarea unor enzime specifice. Cu urmare a formării unor astfel de structuri şi a sintezei unor astfel de enzime, informaţia genetică înscrisă de-a lungul moleculei de ADN determină un tip de metabolism particular pentru un anumit grup de celule. Concepţia despre felul în care genomul influenţează metabolismul celular pe plan genetic a fost dezvoltat de Jacob şi Monod (1961). Autorii sugerează că genomul este organizat în unităţi operaţionale denumite *operoni* şi dintr-o regiune genetică situată în vecinătatea lor, numită *operator*. Operonii guvernează sinteza mai multor proteine şi ei sînt alcătuiţi din una sau mai multe *gene structurale*, fiecare din ele responsabilă de sinteza unei anumite proteine. Activitatea genelor structurale este determinată de starea de funcţionalitate a operatorului; atîta timp cît operatorul este funcţional, ele sînt active. Se susţine că operatorul reprezintă regiunile din ADN în care se iniţiază biosinteza moleculei de ARN-mesager (regiune bogată în citozină şi guanină). Această organizare a genomului este completată de existenţa altor regiuni, responsabile de sinteza de ARN-ribozomal şi a ARN de transfer, care sînt efectorii destinaţi să descifreze şi să traducă în proteine mesajul genetic adus de la genă la citoplasmă prin ARN-mesager format la nivelul genelor de structură din operon.

Informaţia genetică înscrisă în moleculele de ADN graţie capacităţii *de replicare* a ADN poate fi transmisă de-a lungul a două căi separate: pe de o parte, celulelor-fiice, asigurînd în felul acesta *specificitatea caracterelor ereditare*, iar pe de altă parte este *transmis în citoplasmă*, determinînd *specificitatea structurilor celulare*. Se poate trage concluzia deci că genele sînt în acelaşi timp purtătoare ale caracterelor ereditare şi elemente ale funcţiei celulare.

Informaţia genetică este transmisă de-a lungul generaţiilor de celule prin *funcţia autocatalitică* a macromoleculelor de ADN, respectiv cea de formare de noi molecule de ADN. Biosinteza moleculelor de ADN se face printr-un mecanism semiconservativ, fiecare din cele două lanţuri care servesc drept tipar, fiind incluse în noile molecule de ADN. Dublarea ADN nu este numai cantitativ riguroasă, ci este riguroasă şi calitativ. Moleculele nou formate vor prezenta aceeaşi secvenţă a nucleotidelor ca şi cea prezentă în moleculele parentale, deoarece biosinteza noilor molecule se face pe baza complementarităţii bazelor. Întotdeauna în dreptul unei adenine apare o timidină, iar în dreptul unei citozine apare o guanină. Pentru dublarea ADN, nucleul în interfază are nevoie de: baze purinice şi pirimidinice, de fosfaţi, dezoxiriboză şi ADN-polimerază. O parte din aceste substanţe sînt furnizate de citoplasmă. Absenţa uneia din substanţele necesare elaborării noilor molecule de ADN duce la modificări în înlănţuirea nucleotidelor, deci la un tip de ADN anormal. Molecula de ADN îşi păstrează totuşi capacitatea de autoreproducere,

Scanned with OKEN Scanner

dar informaţia genetică nu mai este conservată. În aceste condiţii se produc *mutaţii* ce se reflectă în perturbări ale proceselor de sinteză de proteine, care se vor manifesta în timpul diferenţierii şi vor fi ereditare.

Aşa cum am mai arătat, informaţia genetică poate fi transmisă şi în citoplasmă. Acest proces este realizat prin *funcţia heterocatalitică* a ADN, cea de formare a acidului ribonucleic. Ca şi în cazul copierii informaţiei în noi molecule de ADN, secvenţa nucleotidelor este copiată în molecula de ARN printr-un mecanism de tipar în care ARN se deosebeşte de ADN doar prin înlocuirea timinei cu uracilul.

Dat fiind că cele două catene ale ADN au o compoziţie în baze diferite, s-a ridicat problema care din cele două catene serveşte drept tipar pentru biosinteza ARN. Bresler (1964) afirmă că ambele catene ale ADN sînt în egală măsură capabile să servească drept tipare pentru ARN. Dar dacă ambele catene sînt responsabile de sinteza ARN, mutaţiile ar trebui să fie duble şi în acest fel ar fi greu de înţeles patologia ereditară. S-a mai sugerat că molecula de ADN prezintă o *catenă pozitivă* în care este înscris codul destinat sintezei de proteine şi care serveşte ca tipar pentru ARN şi o *catenă negativă* care este copiată numai în moleculele de ADN. Există în această ipoteză două tipuri de ADN: unul *genetic* şi altul *metabolic*. Dacă un singur lanţ poartă codul genetic destinat sintezei de proteine, se naşte întrebarea cum recunoaşte celula în timpul biosintezei ARN catena potrivită de cea nepotrivită? Răspunsul la această întrebare nu a putut fi încă dat.

În stadiul actual al cunoştinţelor noastre există dovezi că la nivelul ADN nuclear sînt sintetizate trei tipuri de ARN: ribozomal, de transfer şi mesager.

ARN-ribozomal este sintetizat la nivelul cromatinei perinucleare sau în *cantităţi mici* chiar în nucleol. El intră în organizarea moleculară a subunităţilor ribozomale. Rolul acestei tip de ARN este încă disputat.

ARN de transfer este sintetizat pe toate moleculele de ADN şi lui i se atribuie o funcţie de transportor al aminoacizilor în biosinteza proteinelor celulare.

ARN-mesager, ultimul şi cel mai recent tip de ARN descris, este implicat în transferul informaţiei de la gene, la citoplasmă. Existenţa lui a fost sugerată de Jacob şi Monod (1961), care au arătat că poate interacţiona specific şi să formeze hibrizi cu suprafeţe mari ale ADN; este rapid sintetizat în nucleu (cel mai rapid marcat prin izotopi radioactivi), este polidispers (sedimentează la valori diferite în ultracentrifugare diferenţiată) şi are o viaţă scurtă. Acest tip de ARN demonstrat de autorii citaţi, la bacterii, se ataşează de ribozomi, la concentraţii crescute de ioni de Mg. Existenţa efectivă a noului tip de ARN ca moleculă liberă în citoplasmă nu este încă unanim acceptată şi, în stadiul actual al cunoştinţelor noastre, nu reprezintă decît o entitate ipotetică. Un grup de cercetători, între care Harris şi colaboratorii introduc recent (1967) o concepţie nouă asupra mesagerului care pare să fie mai potrivită pentru înţelegerea mecanismului de transfer al informaţiei de la nucleu la citoplasma eucariotelor. În ipoteza lui Harris, ARN responsabil de transferul informaţiei nu există ca atare decît în nucleu. Autorul arată că pînă în prezent nu au putut fi aduse dovezi biochimice asupra existenţei unui alt

Scanned with OKEN Scanner

tip de molecule ARN în citoplasmă, în afară de ARN de transfer şi ARN-ribozomal. Într-adevăr, dacă ARN-mesager ar exista ca macromoleculă simplă de-a lungul căreia se înşiruie ribozomii, el ar fi rapid distrus în citoplasmă de RN-aza citoplasmatică. Bazat pe studii biochimice, Harris arată că ARN-mesager sintetizat pe toată suprafaţa cromatinei nucleare este transmis în citoplasmă numai atunci cînd este încorporat într-o structură care să reziste la degradările intranucleare şi intracitoplasmatice. Acest tip de ARN are o constantă de sedimentare de *16 S*. Polidispersia semnalată ca particularitate a ARN-mesager este socotită un artefact atribuit de Harris degradării intranucleare a moleculelor de ARN-16 S ca rezultat la schimbări de concentraţie a ionilor şi cationilor. În această concepţie, limitarea transferului de la gene la citoplasmă nu constă în limitarea sintezei tiparului, ci în limitarea încorporării lui într-o structură care să reziste degradării intracelulare. Aceste structuri, denumite de S p i r i n (1964) informozomi, par să fie asemănătoare subunităţilor ribozomale de 30 S.

În afară de specificul morfofuncţional al moleculelor de ADN care asigură reproducerea pe de o parte şi metabolismul pe de altă parte, dovezi relativ recente arată că sinteza proteinelor de structură ale nucleului, ribozomilor şi informozomilor este realizată tot în nucleu. Dat fiind că numărul de ribozomi organizaţi în nucleu este de circa 200 de ribozomi pe secundă, apare că circa 25% din totalul de proteine celulare este produs în nucleu. Dacă se adaugă şi cantitatea de ARN şi proteine neribozomale, reiese că circa 45% din totalul macromoleculelor produse în celulă sînt sintetizate la nivelul nucleului. Gradul de participare a nucleului la activitatea sintetică generală, la unele celule, este remarcabil. La unele tipuri de celule se pare că sinteza proteinelor celulare este predominent nucleară (celulele embrionare). Sub acest aspect se descriu sinteze de proteine de tip *predominent citoplasmatic* şi de tip *predominent nuclear*. Celulele la care sinteza de proteine este de tip nuclear au volumul nucleilor mai mare decît masa citoplasmatică; suprafaţa de contact a nucleilor cu masa citoplasmatică este mărită prin lobulaţia nucleilor sau ramificări ale membranei nucleare; concentraţia de ARN în nucleu este foarte crescută; citoplasma acestor celule nu are dezvoltat reticulul endoplasmatic rugos, iar ribozomii sînt liberi.

Celulele la care sinteza de proteine este predominent citoplasmatică prezintă caracteristic un reticul endoplasmic de tip rugos dezvoltat.

Aceste tipuri de nuclei pot fi observate în ontogeneză. Celulele embrionare tinere par să se încadreze în tipul de sinteză nucleară, iar pe măsura diferenţierii lor, sediul sintezei este transferat în citoplasmă.

Anumite tipuri de proteine par să se sintetizeze numai în nucleu. Acesta este cazul gamaglobulinelor care se sintetizează la nivelul limfocitului.

Energia necesară proceselor de biosinteză din nucleu este asigurată de ATP. În nucleu, fosforilarea oxidativă, sursă de ATP, nu a putut fi demonstrată decît în cazul timocitelor, la care s-au pus în evidenţă enzime oxido-reductorii care diferă de cele mitocondriale. Fosforilarea oxidativă la aceste tipuri de nuclei este dependentă de ADN care joacă rol de cofactor.

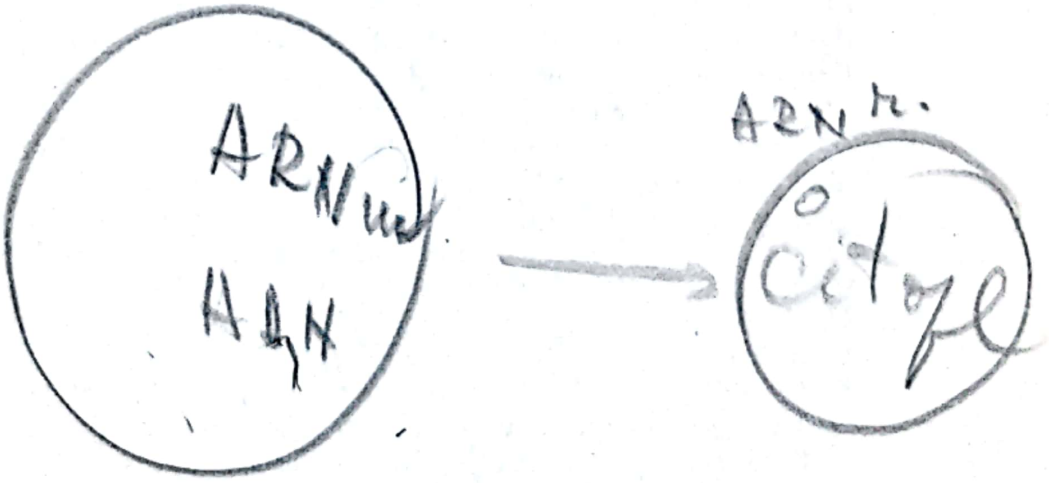
Scanned with OKEN Scanner

Pe lîngă această cale, energia poate fi luată direct din mitocondrii, care vin în vecinătatea nucleului şi transmit molecule de ATP prin intermediul membranei nucleare.

Cea mai obişnuită cale producătoare de energie în nucleu este însă calea glicolizei. Numeroase enzime glicolitice şi substratele lor au fost evidenţiate în nuclei, ceea ce a dus la concluzia că fosfaţii macroergici sînt sintetizaţi pe cale glicolitică, deci activităţile energetice ale nucleului sînt mai mici decît ale citoplasmei.

În afară de proteine, la nivelul nucleului se sintetizează NAD, cofactor indispensabil desfăşurării proceselor metabolice din citoplasmă.

Înainte de a încheia, este necesar să precizăm că nucleul nu trebuie conceput ca avînd o funcţie izolată în celulă, ci trebuie privit ca un organit care acţionează într-o strînsă interrelaţie cu citoplasma. Numeroase cercetări au arătat că nucleul şi citoplasma sînt interdependente şi nu pot supravieţui separat. În timp ce nucleul produce tiparele după care se face structuralizarea specifică pentru fiecare celulă şi prin care el iniţiază şi dirijează activităţile acestor structuri, citoplasma oferă energia necesară desfăşurării acestei activităţi şi conţine aparatul la nivelul căruia are loc sinteza de proteine necesare acestor structuri.



CITOPLASMA

Întreaga porţiune cuprinsă între membrana plasmatică şi nucleul celular este cunoscută sub denumirea de citoplasmă. Ea este una din părţile componente principale ale celulei, care a dobîndit o structură foarte complexă ca urmare a faptului că la nivelul său se efectuează principalele funcţii vitale (cum este: sinteza de proteine, contractibilitatea, conductibilitatea, producţia de energie etc.).

Citoplasma este alcătuită din structuri de aspect corpuscular, filamentos sau membranos înglobate într-o matrice sau substanţa fundamentală. După natura lor, structurile citoplasmatice pot fi categorisite în: a) structuri care prezintă diferenţieri ale substanţei citoplasmatice însuşi (ale materiei vii) în scopul îndeplinirii unor anumite funcţiuni celulare; b) structuri care sînt produsul (rezultatul) unor procese celulare. Prima categorie de structuri sînt denumite şi *organite celulare*, iar cea de-a doua categorie este reprezentată de *incluziunile citoplasmatice*. Organitele celulare la rîndul lor se împart *în organite generale* (organite comune tuturor tipurilor de celule, care îndeplinesc funcţiuni generale) şi *organite speciale* (pe care le întîlnim în anumite tipuri de celule, adaptate unor funcţiuni specifice). Printre organitele speciale citäm miofibrilele, neurofibrilele, tonofibrilele (celulelor epiteliale). Incluziunile sînt substanţe foarte diferite. Unele incluziuni reprezintă materiale de depozit, ca lipidele, glicogenul, pigmenţii, unele săruri minerale. Altele sînt particule minerale sau organice înglobate din mediul exterior, cum sînt particulele de praf, de cărbune, bacterii, virusuri etc. În sfîrşit unele sînt vestigiile unor substanţe digerate de celulele sau chiar elaborate de celulele respective.

De obicei, citoplasma celulelor fixate este slab colorabilă sau uşor acidofilă. Predominenţa unor organite citoplasmatice accentuează acidofilia (de exemplu, mitocondriile şi miofibrilele) sau bazofilia (de exemplu, ribozomii). Prezenţa incluziunilor conferă citoplasmei aspecte caracteristice de colorare (după natura pigmentului) sau de formă (aşa este cazul celulelor care înmagazinează lipide etc.).

Scanned with OKEN Scanner

Incluziunile şi organitele specifice vor fi studiate la fiecare capitol de histologie generală şi specială în parte. În cele ce urmează ne vom ocupa în detaliu de studiul matricei citoplasmatice şi apoi de organitele citoplasmatice generale. Dintre organitele citoplasmatice vom studia pe rînd ribozomii, reticulul endoplasmic, organitele responsabile de mişcările celulelor, mitocondriile, organitele fotorecepţiei şi lizozomii.

MATRICEA CITOPLASMATICĂ

Matricea citoplasmatică mai este cunoscută şi sub denumirile de *hialoplasmă* sau *substanţa fundamentală a citoplasmei.*

Structura. În citologia clasică era considerată ca un gel coloidal — contínuu — o substanţă optic vidă, care înglobează organitele celulare şi incluziunile. Datorită aspectului ei hialin şi mai puţin structurat, matricea citoplasmatică este adesea denumită *hialoplasmă,* în opoziţie cu paraplasma sau structurile paraplastice care sînt reprezentate prin depozitele intracitoplasmatice de pigmenţi, picături de grăsime, cristale etc.

Într-un sens mai larg, particulele virale aparţin paraplasmei. Studiată la microscopul de polarizaţie, în cele mai multe celule, hialoplasma este izotropă; ea apare întunecată la examenul cu nicolii încrucişaţi. În unele celule epiteliale sau în cortexul unor ouă, hialoplasma poate prezenta zone birefringente.

Ultrastructura. Studiile moderne de microscopie electronică au demonstrat o organizare ultrastructurală a matricei cioplasmatice deosebit de complexă, heterogenă şi labilă. Ea umple întregul spaţiu extern al membranelor reticulului endoplasmic. Examinată la puteri măritoare foarte mari, matricea citoplasmatică are un aspect fin granular, o densitate electronică variabilă datorită faptului că ea conţine structuri de forme, dimensiuni şi compoziţii fizico-chimice diferite, În afară de organitele celulare şi de incluziuni, uneori în matrice se observă şi vezicule mici de origine, dimensiuni şi forme variate, reprezentînd din punct de vedere morfologic produşii intermediari de secreţie celulară.

Organizarea moleculară. Cercetările moderne prin difracţie cu raze X au permis observarea la nivelul matricei a unei organizări complexe de macromolecule globulare şi fibrilare cu un diametru de 50—100 Å. Macromoleculele proteice globuloase reprezintă 25% din totalul proteinelor din citoplasmă. Componentele globulare, de diametru variabil, corespund adesea particulelor de ribonucleoproteine — cu rol specific de informaţie genetică în sinteza de proteine. Proteinele globuloase se pot polimeriza temporar trecînd în forma de macromolecule fibrilare şi acestea mai departe în structuri membranoase (aranjament fibrilar sau liniar). Procesul are un caracter reversibil existînd în permanenţă posibilitatea de revenire la forma globulară. Proteinele care intră în procesul reversibil de transformare globulară — fibrilară sînt denumite *proteine structurale.* În unele tipuri de celule, Sandborn (1965) a demonstrat exis-

tenţa unui sistem citoplasmatic de fibrile de structură cu o grosime de circa 185 Å care leagă organitele citoplasmatice între ele şi le ancorează de membrana nucleară (fig. 33). În unele celule diferenţiate există şi posibilitatea ca macromoleculele fibrilare egale în dimensiuni să se organizeze între ele împreună şi cu alţi componenţi citoplasmatici şi să dea naştere unor structuri specifice de tipul miofilamentelor din fibrele musculare, tonofibrilelor din celulele epiteliale, neurofibrilelor din celulele nervoase sau fibrelor aparatului mitotic. Aceste fapte demonstrează că macromoleculele pot determina o mare variaţie de structuri în matricea citoplasmatică şi în mod evident constituie un suport pentru multe ipoteze legate de aspectul morfofiziologic celular. Lanţurile de polipeptide ale reţelei proteinelor structurale se menţin în relaţie, prin legături reversibile de hidrogen, forte Van de Waals sau chiar legături covalente puternice. Transformările sol-gel şi alte proprietăţi mecanice ale celulei ca elasticitatea, rigiditatea, mişcările intracelulare şi contractilitatea sînt probabil determinate de schimbările ce intervin în forţele de legătură, în forma proteinei şi în gradul ei de pliere.

În matrice mai sînt depozitate şi rezervele metabolice ale celulei; polizaharide, sub formă de granule de glicogen, lipidele sub formă de picături sau macromolecule la limita vizibilităţii optice. Matricea citoplasmatică prezintă un conţinut variat în ioni anorganici sodiu, potasiu şi cloruri, apă şi gaze dizolvate Ionii de tip monovalent se găsesc liberi în celulă, în timp ce cationii bivalenţi, magneziu şi calciu, sînt chelaţi cu acizi nucleici şi polizaharidele acide.

Matricea este sediul desfăşurării celei mai mari părţi din procesele metabolice celulare în care intervin un număr mare de enzime. Astfel, în hialoplasmă se găsesc unele enzime legate de glicoliză şi metabolismul aminoacizilor ca hexokinaza, fosfo-fruktakinoza, glicero-3-dehidrogenaza, lactiedehidrogenaza, timidinkinaza, timidylatkinaza, timidylatsintetaza; enzime responsabile de sinteza acizilor graşi, enzime ale ciclului oxidativ pentozfosfat, enzime ce intervin în sinteza şi catabolismul glicogenului (UDP-glucozo- -glucan glucozyl-transferaza, fosfo-gluco-mutaza).

În matricea unor celule se observă macromoleculele contractile, variabile ca talie şi organizare ce stau la originea mişcărilor citoplasmatice.

În concluzie, hialoplasma reprezintă pentru celulă sediul desfăşurării proceselor metabolice esenţiale ale acesteia.

RIBOZOMII

Ribozomii, particule de dimensiuni ultramicroscopice şi de aspect rotunjit, sînt componente ale matricei citoplasmatice, comune tuturor tipurilor de celule animale şi vegetale. Aceste particule mai sînt cunoscute şi sub denumirea de *granulele lui Palade* (în onoarea descoperitorului lor) sau *granule ribonucleoproteice*. Denumirea de granule ribonucleoproteice a fost sugerată de P a l a d e pentru a sublinia importanţa biologică a compoziţiei lor chimice. În adevăr,

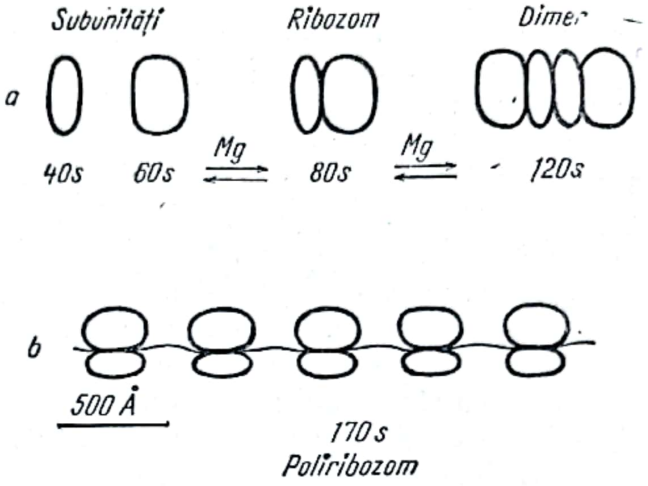


Fig. 34. Agregate ribozomale:
a — subunităţile ribozomului;
b — poliribozomii.

datorită bogatului lor conţinut ribonucleoproteic, ribozomii sînt sediul sintezei tuturor tipurilor de proteine celulare. Totodată, s-a dovedit că ei constituie substratul bazofiliei celulare.

Ultrastructura. Caracteristic pentru ribozomi este uimitoarea uniformitate a organizării lor, independent de tipul şi specia celulară. Ei au aproape aceeaşi greutate moleculară 3—4 milioane; constante de sedimentare foarte apropiate 70—80 de unităţi Swedberg (unităţi S); o formă rotunjită sau uşor ovală şi dimensiuni cuprinse între 100 şi 300 Å. La microscopul electronic, ribozomii se prezintă sub forma unor particule dense la fluxul de electroni care se găsesc fie *liberi* în matricea citoplasmatică, fie *ataşaţi membranelor* reticulului endoplasmic. Ei mai sînt ataşaţi şi membranei nucleare externe, dar nu-i întîlnim niciodată ataşaţi membranei plasmatice. Atît ribozomii liberi cît şi cei ataşaţi la membrane au tendinţa de a se aglomera în grămezi mici sub formă de rozetă, cerc sau spirală. Aderenţa ribozomilor la citomembrane este o achiziţie recentă în dezvoltarea filogenetică şi ontogenetică celulară. Aşa, de exemplu, celulele bacteriene nu posedă ribozomi ataşaţi de citomembrane, iar la metazoare, ribozomii asociaţi citomembranelor apar numai spre sfîrşitul procesului de diferenţiere a celulelor embrionare. Ataşarea ribozomilor la citomembrane este consecinţa specializării procesului de sinteză a proteinelor în direcţia separării sintezei proteinelor de export de cele structurale. Aceasta constituie încă un exemplu de corelaţie între heterogenitatea morfologică şi heterogenitatea funcţională.

Colorarea cu acetat de uranil permite diferenţierea ribozomilor liberi de cei ataşaţi citomembranelor. Astfel, ribozomii ataşaţi la citomembrane devin mai denşi la fluxul de electroni decît ribozomii liberi. Acest fapt este pus pe seama unor diferenţe în concentraţia de acid ribonucleic din cele două tipuri de ribozomi.

În urma colorării negative cu acid fosfotungstic, H u x l e y şi Z u b a y au putut constata că ribozomii sînt compuşi din doi corpusculi (subunităţi)

inegali ca formă şi mărime (fig. 34). Un corpuscul mic asimetric de 95×170 Å şi un corpuscul mare aproape rotund de 140×180Å. Corpusculul mic corespunde unei subunităţi cu constanta de sedimentare de 30 S, iar cel mare unei subunităţi cu o constantă de 50 S. Cu ajutorul coloraţiei negative s-au observat şi grupuri de ribozomi legaţi între ei prin filamente fine de 20 Å — *poliribozomi sau polizomi* (fig. 34). Una din însuşirile esenţiale ale ribozomilor pare să fie capacitatea lor de a se uni spre a forma structuri dimere sau polimere (tri-, tetra-, pentamere etc.) şi de a se dezagrega în subunităţi. Acest proces este controlat de concentraţia ionilor de magneziu. În condiţii experimentale (pe ribozomi izolaţi prin ultracentrifugare) s-a constatat că integritatea structurii monomere a ribozomilor este conservată la o concentraţie de 0,001 M a ionilor de magneziu. Dacă această concentraţie este depăşită, ribozomii se unesc formînd dimere sau polimere, iar dacă concentraţia ionilor de magneziu scade ribozomii de 70 S se separă în subunităţile componente (de 50 S şi respectiv de 30 S). Se consideră că *poliribozomii sau polizomii reprezintă formele active ale ribozomilor.*

Caracteristica chimică principală a ribozomilor este înaltul lor conţinut în ARN şi proteine. Acestea se află în cantităţi aproximativ egale. Totodată, ribozomii mai conţin şi apă, ioni de magneziu şi de calciu.

ARN-ribozomal constituie componenta principală din textura ribozomilor, responsabilă de *bazofilia* lor. Este de remarcat că ribozomii cuprind circa 80—90% din totalul ARN-celular. ARN-ul celor două subunităţi ribozomale prezintă caracteristici diferite. Subunitatea mică (de 30 S) pare să conţină un ARN cu o greutate moleculară de circa 600 unităţi Dalton (cuprinzînd în total 1 500—1 800 nucleotide) şi cu o constantă de sedimentare de 18 S. Subunitatea mare (de 50 S) conţine un ARN cu greutate moleculară de 1 200 000 (4 000 nucleotide) şi constanta de sedimentare de 28 S. Lanţurile de ARN ale celor două subunităţi ribozomale (de 30 S şi 50 S) sînt entităţi chimice distincte care diferă atît în ceea ce priveşte numărul de nucleotide, dar mai ales în ceea ce priveşte secvenţa nucleotidelor, fapt ce sugerează că sînt sintetizate pe gene diferite. Secvenţa nucleotidică este deosebită şi în subunităţile ARN din ribozomi liberi faţă de cei ataşaţi de membrană.

Proteinele din structura ribozomilor au greutatea moleculară mică, cuprinsă între 13 şi 25 000. Se pare că proteinele ribozomale au o compoziţie în aminoacizi foarte asemănătoare, indiferent de tipul de celulă. Ele conţin cantităţi însemnate atît de aminoacizi dibazici cît şi de tip diacid. Deoarece o porporţie substanţială din radicalii acizi ai aminoacizilor sînt amidaţi, proteinele de structură au un caracter predominent bazic asemănător histonelor. Prin analize electroforetice s-au izolat un număr de circa 40 de tipuri de proteine dintr-o unitate ribozomală şi s-a stabilit că cele două subunităţi ribozomale (de 30 S şi 50 S) conţin proteine diferite şi distincte. Proteinele izolate din ribozomi manifestă o puternică interacţiune atît electrostatică cît şi neelectrostatică. Această particularitate face să se acorde proteinelor de structură rolul de organizator principal al unităţilor ribozomale. Anihilarea forţei de interacţiune a

Scanned with OKEN Scanner

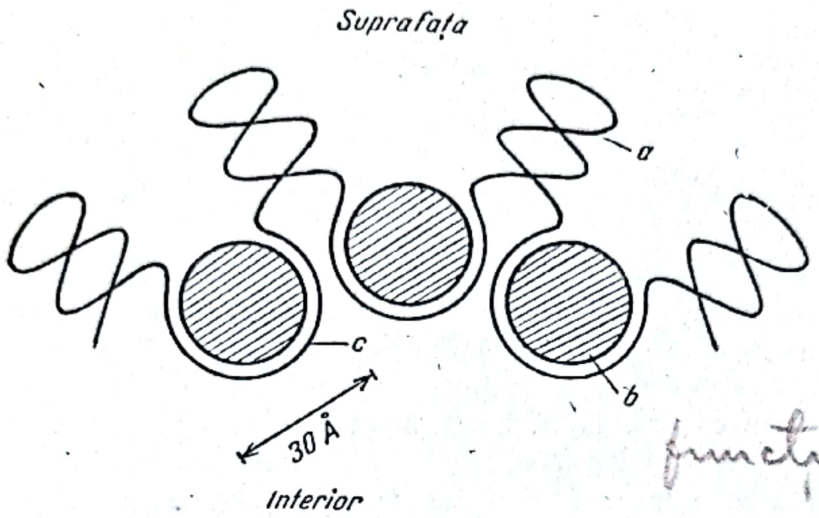


Fig. 35. Organizarea moleculară a subunităţii ribozomale:
a — lanţuri dublu elicoidale de ARN ribozomal; b — molecule de proteină; c — lanţuri monocatenare de ARN ribozomal.

proteinelor intraribozomale, ca urmare a tratării cu concentraţii saline crescute, conduce la dezagregarea ribozomilor şi la obţinerea unui lanţ întins de ARN pe care sînt ataşate proteinele ribozomale de structură. Aşadar, pentru a alcătui structura tridimensională a ribozomului, lanţul de ARN se încolăceşte şi se spiralizează într-un fel anumit sub influenţa forţelor de interacţiuni ale proteinelor proprii. În figura alăturată (fig. 35) este prezentată ipoteza lui Cotter, McPhie şi Gratzer (1968) cu privire la anatomia ribozomilor. Această ipoteză sugerează că filamentele de ARN-ribozomal prezintă porţiuni scurte dublu helicoidale plasate la suprafaţa ribozomilor şi segmente monocatenare aşezate înspre partea internă a ribozomilor. Segmentele monocatenare contractează legături cu moleculele proteice formînd structuri ribonucleoproteice. Se pare că 60% din nucleotidele ARN-ribozomal ar fi cuprinse în segmentele dublu helicoidale, iar restul de 40% în porţiunile monocatenare combinate cu proteinele. În conformitate cu această ipoteză, la suprafaţa ribozomilor lipsesc proteinele care fie sînt asociate segmentelor monocatenare ale ARN (pentru a forma complexe ribonucleoproteice), fie interacţionează între ele pentru a realiza structuri cuaternare specifice.

Existenţa unei suprafeţe cu grupări chimice aliniate într-un anume fel (ARN-ribozomal) trebuie considerată ca fiind o dispoziţie favorabilă exercitării funcţiei ribozomilor în sinteza proteinelor celulare.

Procesul de *edificare a ribozomilor* este un proces complex care se efectuează în trei etape. Într-o primă etapă are loc sinteza componentelor de bază, şi anume a ARN-ribozomal şi a proteinelor ribozomale de structură. Ulterior, în cea de-a doua etapă se formează *neozomii* prin unirea ARN-ribozomal cu proteina ribozomală de structură. În sfîrşit, în a treia etapă, neosomului i se asociază molecule de proteine suplimentare, iar ribozomul definitiv capătă proprietăţi specifice.

În privinţa *sediului formării ribozomilor* există numeroase fapte care dovedesc că nucleul participă direct la edificarea structurii particulare ribozomale. Existenţa ribozomilor nucleari este tocmai o astfel de dovadă. Sînt însă indicaţii care implică şi citoplasma, cel puţin în unele etape ale organizării ribozomilor. Se consideră că prima etapă a procesului de edificare a ribozomilor probabil şi cea de-a doua se efectuează la nivelul nucleului, iar ultima este posibil să se efectueze şi în citoplasmă.

Sinteza ARN-ribozomal se face printr-un mecanism de tipar după matricea ADN localizat la nivelul cromozomilor care intră în constituţia aparatului nucleolar (organizatori nucleolari). Analiza secvenţei bazelor nucleotidice în ADN a acestor secvenţe este complementară ARN de 28 S şi 18 S. Acest aspect sugerează că cele două gene care participă activ la sinteza celor două tipuri de ARN-ribozomal par să fie aşezate în strînsă vecinătate. În această ipoteză, ARN-ribozomal ar fi sintetizat iniţial într-o singură moleculă precursor de 45 S, care apoi este scindată în două subunităţi, dînd naştere la cele două subunităţi ale moleculei de ARN-ribozomal (de 28 S şi 18 S).

Rolul ribozomilor. Cercetările efectuate în deceniul trecut au dovedit că legarea aminoacizilor în lanţuri polipeptidice în scopul sintezei proteinelor celulare se efectuează la nivelul ribozomilor. Se consideră că ribozomii liberi din matricea citoplasmatică sintetizează proteinele celulare de structură cum sînt proteinele (inclusiv proteinele-enzime) din matricea celulară şi celelalte organite, precum şi unele proteine ale structurilor speciale, cum este cazul hemoglobinei, miofibrilelor etc. De aceea, acest tip de ribozomi predomină în celulele embrionare în curs de diferenţiere în reticulocite, în celulele canceroase etc. Ribozomii aderenţi la citomembranele sistemului vacuolar (reticulului endoplasmatic) sînt implicaţi în procesele de sinteză a proteinelor destinate pentru export (secreţie celulară). Aşa este cazul proteinelor secretate de pancreasul exocrin sau al serumalbuminelor din plasmocite. În aceste celule, cavităţile reticulului endoplasmic se destind prin acumularea de proteine sintetizate de ribozomi la suprafaţa lor.

În cele ce urmează vom prezenta *mecanismul general de sinteză* a proteinelor, aşa cum are loc la nivelul ribozomilor citoplasmatici, urmînd ca la reticulul endoplasmic să dezvoltăm problema particulară a sintezei proteinelor de export.

Dintr-un început trebuie să remarcăm că biosinteza proteinelor celulare la nivelul ribozomilor citoplasmatici este un proces complex a cărui desfăşurare se află sub controlul nucleului. Aşa cum au dovedit cercetările contemporane, nucleul controlează sinteza proteinelor celulare, nu numai pentru că este sediul formării ribozomilor, dar şi pentru faptul că este depozitarul planurilor de organizare al tuturor proteinelor celulare (codul genetic). După cum am menţionat şi la capitolul privind funcţiunile nucleului, în moleculele de ADN nuclear este înscrisă ordinea de succesiunea a aminoacizilor din lanţurile polipeptidice, ordine care asigură specificitatea proteinelor sintetizate la nivelul ribozomilor citoplasmatici. Pentru ca informaţia privitoare la edificarea proteinelor celulare să ajungă în citoplasmă, ea este copiată pe un tip special de ARN

Scanned with OKEN Scanner

macromolecular, denumit ARN-mesager (M o n o d, 1961) sau informozom (S p i r i n, 1964). Biosinteza lui avînd loc la nivelul ADN-cromozomial ordinea succesiunii nucleotidelor în acest tip de ARN este complementară ADN şi cu rigurozitate păstrată (fig. 36). Totodată, în nucleu mai sînt sintetizate şi moleculele de ARN de transfer cu ajutorul cărora, la nivelul ribozomilor citoplasmatici, poate fi citită copia planului de organizare a proteinelor înscrisă în ARN-mesager.

Aşadar, pentru ca sinteza proteinelor celulare specifice să se poată efectua la nivelul ribozomilor citoplasmatici, este necesară prezenţa următoarelor elemente: a) aminoacizi; b) sursa de energie care va fi cheltuită în procesul reacţiilor de peptidare; c) copii după planurile (după codurile genetice) de alcătuire a proteinelor (din depozitul de ADN-nuclear); d) o „cheie" cu ajutorul căreia să poată fi citite (să poată fi descifrate) copiile planurilor de organizare a proteinelor celulare. Aminoacizii şi sursa de energie (reprezentată de GTP) sînt oferite de matricea citoplasmatică din jurul ribozomilor. Copiile după codul genetic şi cheia pentru deslușirea acestuia sînt trasmise de nucleu sub forma ARN-mesager (ARN-m) şi respectiv ARN de transfer (ARN-t) (fig. 36).

ARN-mesager reprezintă tiparul potenţial al sintezei de proteine care va servi la ordonarea diferiţilor aminoacizi în polipeptid şi care va putea funcţiona ca tipar real numai în momentul cînd este aşezat în poziţie corectă pentru a fi descifrat şi tradus. Suportul care permite descifrarea şi traducerea informaţiei aduse de la genom de către ARN-mesager îl constituie ribozomii. Cercetările arată că ARN-mesager ataşează simultan mai mulţi ribozomi, formînd *agregate ribozomale*, denumite şi *polisomi* sau *poliribozomi* (W a r n e r, R i c h, H a l l, 1963). Aceştia reprezintă unităţile funcţionale active, deci tiparul complet după care se face descifrarea mesajului genetic şi traducerea lui în lanţuri polipeptidice. Întrucît poliribozomii sînt sediul unor reacţii ce necesită cantităţi mari de energie, ei au fost denumiţi şi *ergosomi* (S t a c h e l i n, 1963). Durata stării de agregare a polisomilor este limitată de viaţa scurtă a ARN-mesager care, o dată citit, se dezagregă punînd în libertate ribozomi solitari în matrice — ribozomi sterili. Avînd o inerţie metabolică mare, ribozomii pot fi utilizaţi de mai multe ori în noi agregate ribozomale. Grupările ribozomale observate atît pe secţiuni fine la microscopul electronic cît mai ales prin utilizarea tehnicii de colorare negativă a ribozomilor par să conţină 4—6 monomeri dispuşi în lanţ şi legaţi prin filamente de ARN-mesager. Distanţa dintre centri geometrici ai ribozomilor cuprinşi în polizomi este de 300—360 Å, iar între unităţile ribozomale de circa 150 Å. Numărul de ribozomi din agregate este în relaţie directă cu tipul de proteină care se sintetizează la suprafaţa lor sau mai precis cu lungimea mesajului purtat de ARN-mesager. R i c h şi colab. (1963) consideră că pentru sinteza unei subunităţi din molecula de hemoglobină (care conţine 150 de aminoacizi) în ipoteza unui cod format din triplete, ARN-m corespunzător comportă 450 de nucleotide. Nucleotidele fiind despărţite prin spaţii de 3,4 Å, înseamnă că lungimea ARN-m va fi egală cu circa 1 500 Å. Întrucît un lanţ de ARN-m cu asemenea lungime nu poate fi citit

Scanned with OKEN Scanner

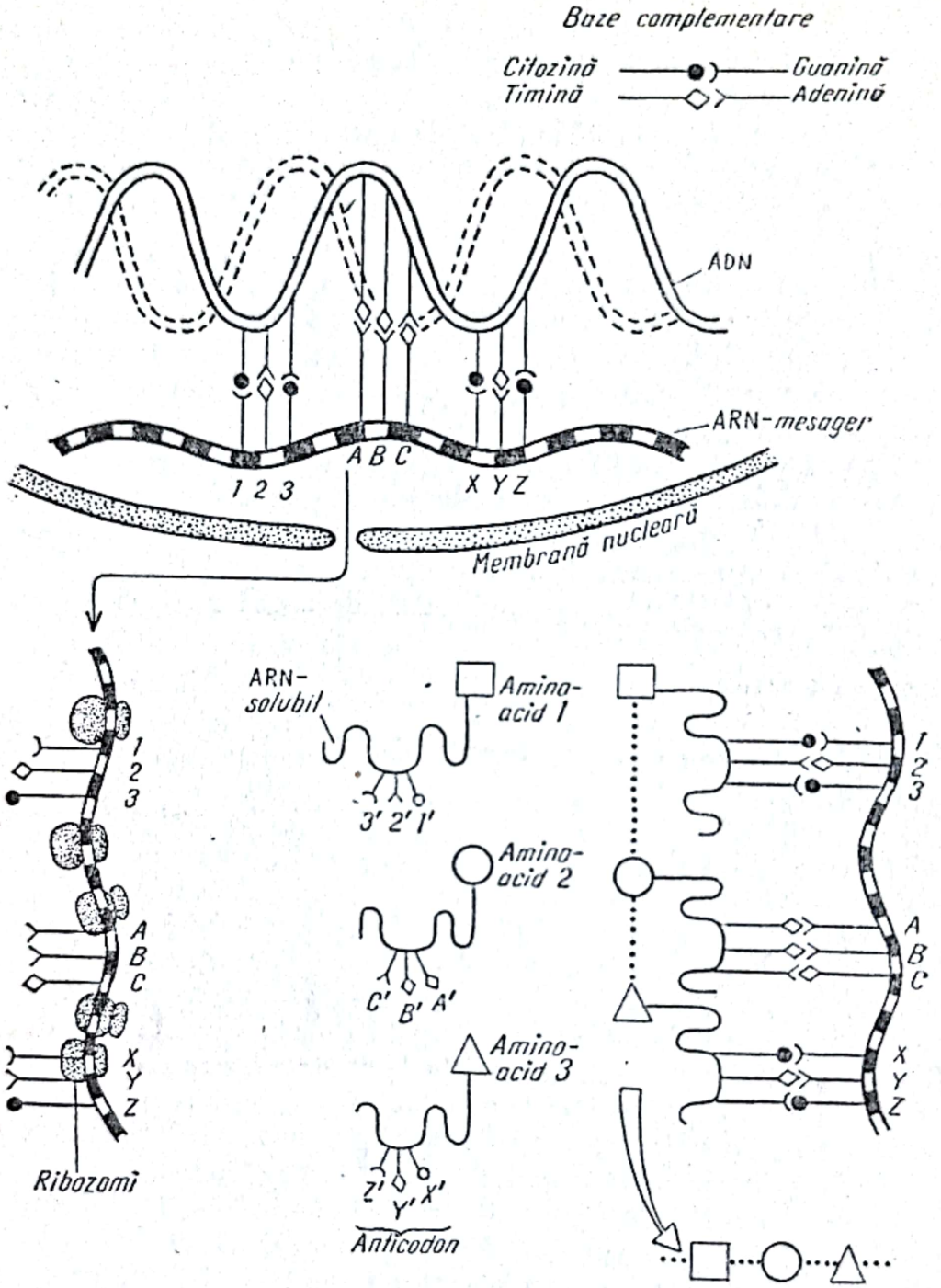


Fig. 36. Participarea ribozomilor în sinteza de proteine.

decît desfăşurat pe suprafaţa ribozomilor, reiese clar că pentru întinderea lui în cazul sintezei unei subunităţi din molecula de hemoglobină sînt necesari cinci ribozomi.

Descifrarea codului genetic înscris în ARN-mesager s-ar efectua în conformitate cu concepţia lui Rich, printr-un proces de rulare a agregatelor ribozomale în lungul macromoleculelor de ARN-m. În acest proces, ribozomii

din agregate s-ar deplasa de-a lungul ARN-m unul în spatele altuia, prin înşurubare, asigurînd citirea codului într-un singur sens. Pe măsură ce ribozomul progresează de-a lungul ARN-m (timp de un minut, el ajunge la capătul terminal), el descifrează codul genetic şi în faţa fiecărui codon se petrece inserţia aminoacidului convenabil, adică cel care este specificat de triplet (fig. 36). În acelaşi timp în care primul ribozom avansează descifrînd mesajul înscris în ARN-m trec şi ceilalţi ribozomi din agregatul polizomal necesar pentru sinteza unei macromolecule proteice date. Avansarea ribozomilor în lungul ARN-m se realizează prin mişcări ireversibile asemănătoare mecanismului de înşurubare, fiecare tur al înşurubării corespunzînd unui triplet de baze în jur de 10 Å. În acest fel s-ar părea că ribozomii stabilizează ARN-m şi îl menţine într-o poziţie orientată cu bazele nucleotidice dispuse într-o singură parte, ajutînd la descifrarea codului genetic înscris în ARN-m în dreptul fiecărui triplet, comandînd încorporarea unui anumit aminoacid din cei 20 care se găsesc în pool-ul metabolic. Aşa după cum s-a mai spus, ipoteza existenţei unui ARN-m a fost elaborată de Jacob şi Monod, pe baza cercetărilor asupra protocariotelor. Recent a fost elaborată o nouă ipoteză în care se susţine că *toate funcţiile ARN-mesager ar fi îndeplinite de particula mică (de 30 S) a ribozomului* (Harris, 1968).

Încorporarea aminoacizilor în lanţul polipeptidic (după tiparul înscris în lanţul de ARN-m al polizomilor) implică intervenţia unui al treilea tip de ARN, aşa-numitul *ARN de transfer*. ARN de transfer sintetizat la nivelul nucleului sub forma unui polinucleotid de mică greutate moleculară (după tiparul ADN-cromozomial) pătrunde cu uşurinţă în matricea citoplasmatică (ajungînd în vecinătatea ribozomilor) ca urmare a relativei sale solubilităţi. Datorită solubilităţii sale ridicate mai este cunoscut şi sub denumirea de ARN-solubil. ARN de transfer efectuează două reacţii succesive: 1) formează o combinaţie specifică cu aminoacizii (aflaţi în soluţie în matricea citoplasmatică); 2) se ataşează pe polizom într-un loc anumit corespunzător secvenţelor înscrise în ARN-m, Aşadar, pentru a realiza transportul aminoacidului în lanţul polipeptidic, ARN de transfer posedă o dublă specificitate: *o specificitate de acceptare,* în baza căreia se combină numai cu un anumit aminoacid (din cele 20 de tipuri de aminoacizi existenţi în citoplasmă) şi *o specificitate de transfer,* în baza căreia recunoaşte tripletul potrivit (corespunzător succesiunii înscrise în ADN-cromozomial) din ARN-mesager. La una din extremităţile lanţului polinucleotidic al ARN de transfer este localizată specificitatea de acceptare, iar la cea opusă (extremitatea buclată) este localizată specificitatea de transfer.

Combinarea specifică a ARN de transfer cu aminoacidul (în baza specificităţii de acceptare) se efectuează prin aşa-numita *activare* a aminoacizilor.

Activarea aminoacizilor din matricea citoplasmatică constă în transformarea lor în aminoacyl-adenilat. Această etapă preliminară se realizează sub acţiunea unor enzime specifice pentru fiecare aminoacid, numite enzime de pH 5 care determină amplasarea unei molecule de ATP în dreptul extremităţii carboxilice a aminoacidului. Ataşarea aminoacidului activat la ARN de transfer reprezintă *prima etapă* care realizează specificitatea unei molecule proteice, deoarece din cele 20 de tipuri de aminoacizi din citoplasmă numai anumiţi aminoacizi sînt

Scanned with OKEN Scanner

transportaţi la sediul sintezei. Specificitatea de acceptare pare să fie reprezentată de secvenţa particulară a ribonucleotidelor conţinute în porţiunea dublu helicoidală a ARN de transfer şi care este foarte diferită, existînd atîtea variante de înlănţuire a ribonucleotidelor în aceste segmente cîte tipuri de aminoacizi există în pool-ul metabolic celular. Conform acestei specificităţi, aminoacylul se fixează pe extremitatea pC pC pA printr-o legătură ester între grupa carboxil a aminoacidului şi grupa hidroxil a ribozei adenozinei terminale. Se realizează în felul acesta complexul *aminoacyl-ARN-t.*

Etapa următoare activităţii aminoacizilor este constituită de *amplasarea complexului aminoacyl-ARN-t în dreptul ARN-mesager şi asamblarea aminoacizilor în lanţul polipeptidic.*

Amplasarea complexului aminoacyl-ARN-t în dreptul ARN-mesager se realizează graţie specificităţii de transfer localizată la nivelul extremităţii opuse (buclate) a ARN de transfer ce poartă aminoacidul activat. Specificitatea de transfer este reprezentată de un triplet nucleotidic cu o secvenţă de baze complementară unui anume codon înscris pe ARN-m.

Asamblarea sau înlănţuirea aminoacizilor în lanţul polipeptidic se face în momentul în care complexul aminocacyl-ARN-t este acceptat de codonul ARN-mesager. Cu alte cuvinte, în momentul în care în dreptul primului triplet al ARN-mesager se va insera o moleculă de ARN de transfer care aduce primul aminoacid al lanţului polipeptidic în curs de formare şi a cărui capăt informaţional comportă tripletul complementar codului (anticodonul). Imediat după aceea, în dreptul următorului codon al ARN-m se va insera al doilea ARN-t care conţine anticodonul corespunzător şi care aduce al doilea aminoacid. Primul aminoacid printr-o reacţie chimică se detaşează de ARN-t şi se ataşează la extremitatea aminoacyl-ARN-t alăturat prin legarea grupului amino- de carboxilul aminoacidului dinaintea lui. Deci, întotdeauna vor fi alături 2 ARN-t, unul care aduce un aminoacyl şi altul care a devenit liber. Astfel, ia naştere un polipeptidil ARN-t.

Oprirea biosintezei este realizată în momentul cînd complexul polipeptidil-ARN-t ajunge la un triplet „nonsens" de pe ARN-mesager. El se detaşează şi lanţurile polipeptidice sînt eliberate în matricea citoplasmatică. Lanţurile polipeptidice nu rămîn liniare, ci se plisează, se contorsionează pentru a primi configuraţia caracteristică structurilor primare sau secundare în funcţie de dispunerea în spaţiu a aminoacizilor. Combinate între ele, aceste structuri pot forma structuri terţiare legate de procesele de diferenţiere celulară sau de secreţie. Eliberarea lanţurilor polipeptidice pare să aibă loc fără nici o modificare a structurii ribozomilor, dar implică consumarea prin dezagregare a moleculei de ARN-m cu consecinţa descompunerii ergozomului în unităţi funcţional inactive.

În încheiere, atragem atenţia asupra faptului că pînă în prezent desluşirea mecanismului sintezei proteinelor celulare a fost clarificată numai în liniile lui mari, că mai sînt încă de clarificat numeroase probleme atît de detaliu cît şi de principiu.

Ceea ce se ştie precis este că în biosinteza proteinelor ribozomii devin activi numai atunci cînd ataşează un ARN-m şi un ARN-t.

Scanned with OKEN Scanner

SISTEMUL VACUOLAR CITOPLASMATIC, RETICULUL ENDOPLASMIC SAU CITOMEMBRANELE

Prezența unui sistem complex de citomembrane intracitoplasmatice este una dintre cele mai importante dezvăluiri ale aplicațiilor microscopiei electronice la citologie. Această descoperire a avut darul pe de o parte să determine reconsiderarea datelor mai vechi despre unele organite celulare, ca, de exemplu, cele despre ergastoplasmă și aparatul Golgi. Dar, mai presus de aceasta, descoperirea complexului de citomembrane constituie un pas important în înțelegerea interrelației dintre structură și funcție la nivel celular și în aprofundarea cunoștințelor noastre asupra biologiei celulare. În adevăr, complexitatea, diversitatea și plasticitatea acestui sistem de citomembrane constituie un suport structural important pentru uimitoarea heterogenitate funcțională care caracterizează biologia celulară.

Primele indicații despre reticulul endoplasmic provin de la K. Porter (1945) care, studiind macrofagele cultivate in vitro la microscopul de contrast de fază, semnalează prezența unui component citoplasmatic special — o rețea formată din cavități delimitate de membrane, ce variază considerabil ca formă și dimensiune. Dat fiind faptul că rețeaua respectivă este mult mai abundentă în endoplasma celulelor decît în ectoplasmă, Porter și Kallman (1952) au propus să fie denumită *reticul endoplasmic*. Ulterior s-a dovedit că sistemul de membrane intracitoplasmatice observat de Porter are o bază ultrastructurală comună cu alte organite celulare, ca ergastoplasma, zona Golgi, membrana nucleară etc. Tocmai pentru a sublinia continuitatea sistemului, unii autori preferă termeni mai generali, ca *sistem vacuolar sau citomembrane*. Observat la microscopul electronic, reticulul endoplasmic este reprezentat de citomembrane care limitează *tubuli, trabecule, vezicule, saci turtiți și cisterne*. Sînt frecvente cazurile cînd sacii sau cisternele se adună în grupe de membrane paralele sau stive. Componenta membranoasă intracitoplasmatică care intră în alcătuirea reticulului endoplasmic are o structură trilaminată, iar grosimea sa totală măsoară în medie 50—75Å. Modelul „unit" pentru structura membranei mitocondriale propus de Robertson rămîne deci caracteristic și membranelor reticulului endoplasmic. În prezent, noțiunile de sistem vacuolar, citomembrane și reticul endoplasmic sînt utilizate ca sinonime pentru a desemna ansamblul membranelor intracitoplasmatice (fig. 37).

În cele ce urmează vom descrie: alfa-citomembrane sau reticul endoplasmic granular (sau rugos); beta-citomembrane sau reticul endoplasmic neted (sau agranular) și gama-citomembrane sau zona Golgi.

Alfa-citomembranele, reticulul endoplasmic rugos sau ergastoplasma. Cercetările moderne de microscopie electronică au dovedit că structurile bazofile vizibile în preparatele histologice curente nu sînt altceva decît expresia microscopooptică a unor aglomerări de afla-citomembrane. Așadar, în prezent, ergastoplasma trebuie considerată o *formă* particulară, de organizare a reticulului endoplasmic rugos, și anume alfa-citomembrane dispuse sub formă de

Scanned with OKEN Scanner

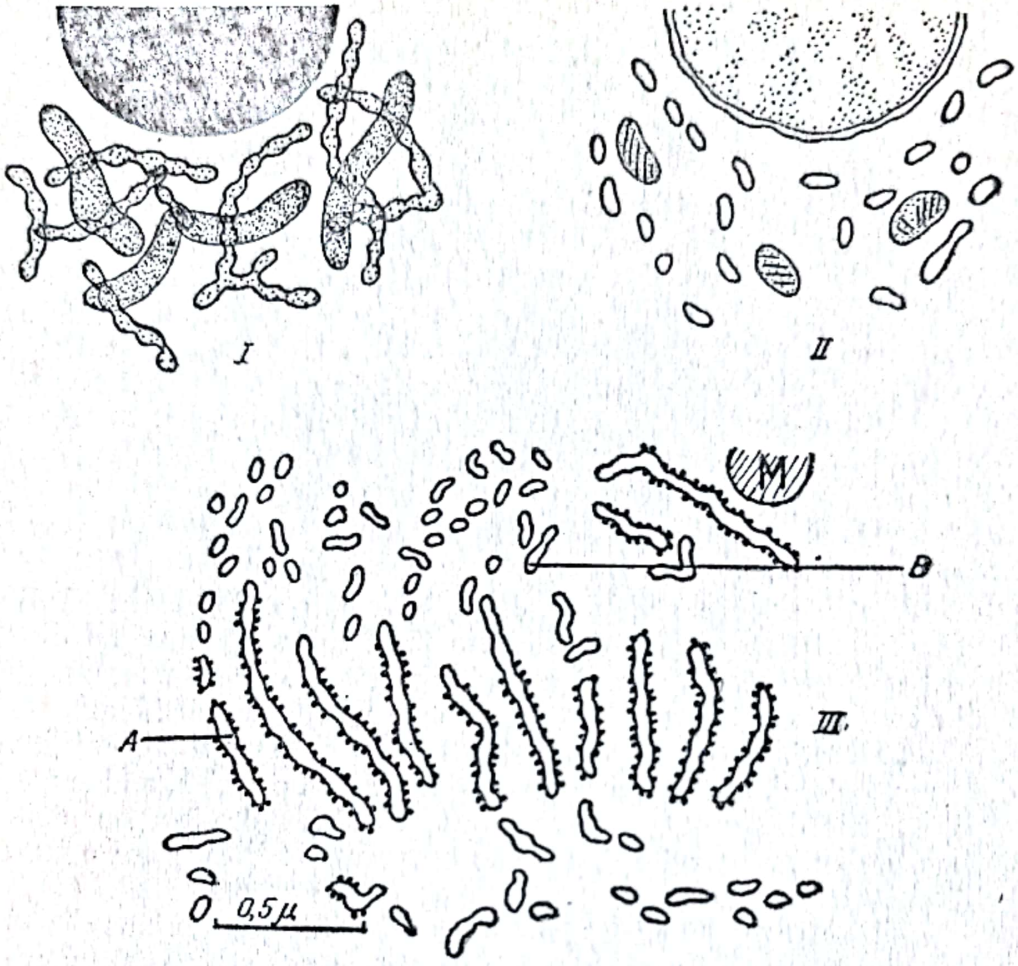


Fig. 37. Schema reticulului endoplasmic:
I — reticul endoplasmic cu dispoziție tubulară și cisterne; II — cisterne ale reticulului endoplasmic; III — aspect al celor două tipuri de reticul endoplasmic; A — reticul endoplasmic rugos; B — reticul endoplasmic neted.

grămezi de saci aplatizați sau cisterne, așezate în stive (fig. 38). Termenul de ergastoplasmă a fost folosit pentru prima oară de Garnier (1897) pentru a desemna acea regiune din citoplasma celulelor epiteliale ale glandelor salivare care are aspectul filamentos și care se colorează ușor cu coloranții bazici. S-a stabilit că intensitatea colorației cu safranină, cu violet de gențiana sau albastru de toluidină, a filamentelor ergastoplasmatice, depinde de stadiul secretor al celulelor respective. În 1940. Ries încearcă să studieze ergastoplasma cu microscopul de polarizație. Studiile citochimice cu metodele lui Brachet sau cea a lui Caspersson dovedesc că bazofilia ergastoplasmei se datorează conținutului său foarte ridicat în acizi ribonucleici. O dată cu aceasta, ergastoplasma este asociată cu sinteza de proteine. Cercetările experimentale au dovedit o interrelație strînsă între starea de activitate a celulelor și aspectul ergastoplasmei lor. Astfel, în cursul unor modificări patologice sau stressuri funcționale, ergastoplasma poate dispărea (cromatoliză) și reapărea din nou, cînd celulele regenerează (cromatogeneză). În adevăr, în celulele nervoase

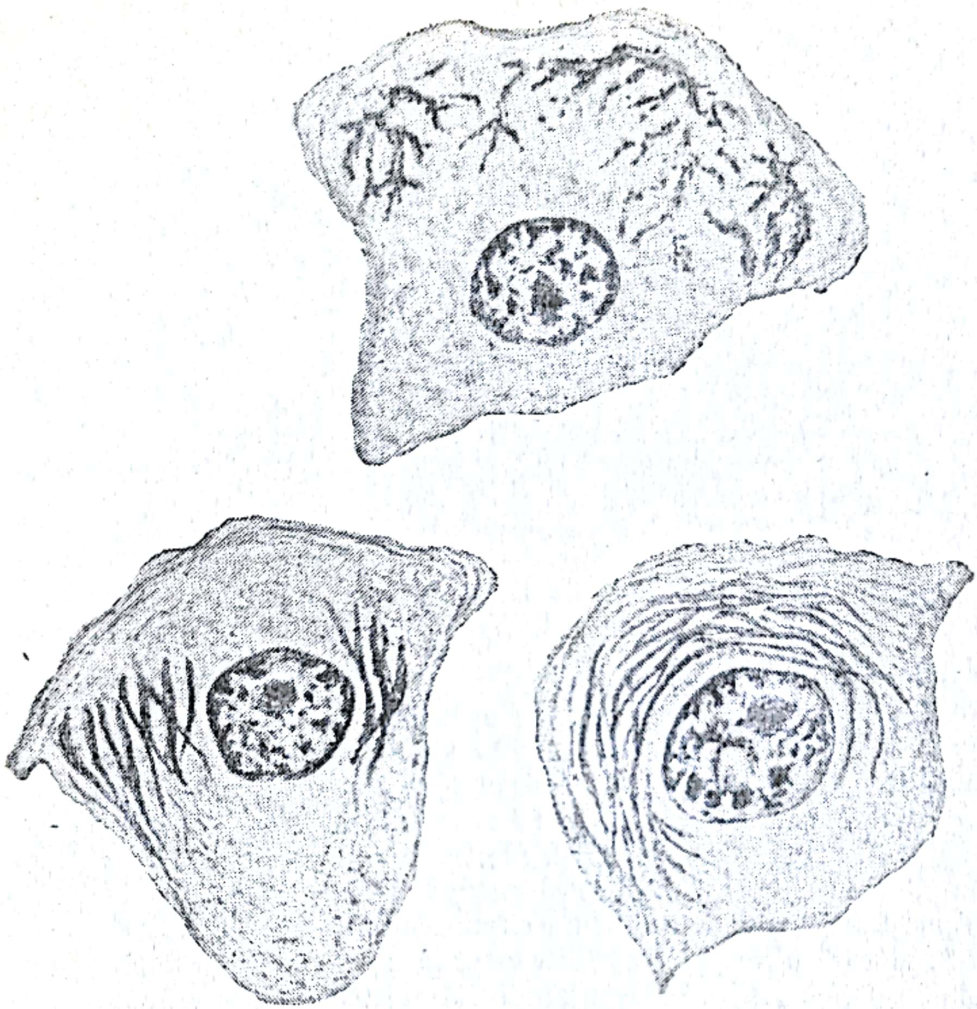


Fig. 38. Ergastoplasma la microscopul optic.

motorii sau senzoriale, în timpul degenerării retrograde (urmare a secţionării axonului) se produce o liză — o dezintegrare a corpilor tigroizi (corpii Nissl) din citoplasmă, ergastoplasma dispare sau se poate transforma în vacuole fine. Acest proces numit în general cromatoliză este însoţit de o descreştere în ARN şi în conţinutul proteic al celulei. Procesul de cromatoliză este mai exagerat, în ficatul supus acţiunii unor substanţe carcinogene.

După cum am spus mai sus, cercetările *de microscopie electronică* au dovedit că substanţa bazofilă, vizibilă la microscopul luminescent şi cunoscută în histologie sub denumirea de ergastoplasmă, este alcătuită din alfa-citomembrane. Caracteristica esenţială ultrastructurală a acestui tip de reticul endoplasmic este determinată de faptul că pe suprafeţele externe ale membranelor sale se găsesc ataşaţi ribozomi. Granulele dau un aspect crenelat alfa-citomembranelor. Diametrul granulelor este de 150—200 Å, similar cu cel al ribozomilor. Distanţa dintre două granule alăturate este de 150—450 Å. Ele sînt aliniate în şiruri, în cerc, în spirale sau în rozete în jurul cisternelor.

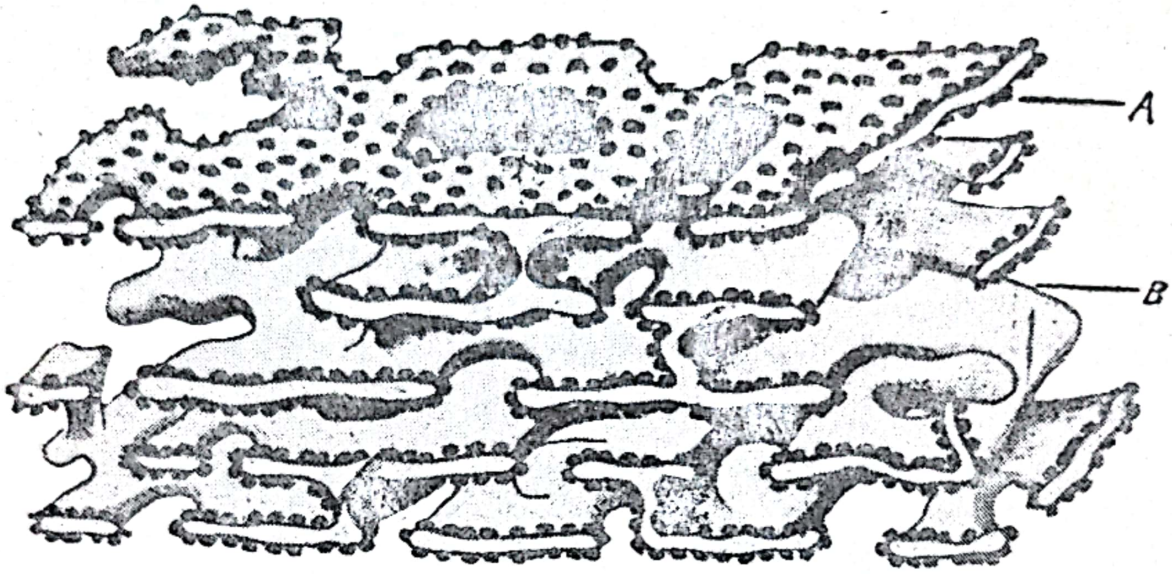


Fig. 39. Reticul endoplasmic granular: A — ribozomi; B — cisterne.

Între membranele reticulului endoplasmic granular există un spaţiu al cărui diametru variază considerabil. Aşa, de exemplu, celulele epiteliale din pancreasul exocrin şi celulele hepatice prezintă un reticul endoplasmic cu un spaţiu foarte îngust. Alte celule, cum sînt plasmocitele şi celulele caliciforme, prezintă un reticul endoplasmic rugos cu spaţii largi (de 400—500 Å grosime), pline cu material dens la fluxul de electroni. Densitatea electronică a conţinutului cavităţii alfa-citomembranelor este de obicei mai mică decît a matricei citoplasmatice din jur. Materialul delimitat de citomembrane este adeseori omogen şi nestructurat; alteori, el poate avea un aspect granular sau heterogen. În cisternele unor celule se pot întîlni chiar granule intracisternale, asemănătoare unor granule mici de zimogen (celulele epiteliale din acinii pancreasului).

Cercetările de microscopie electronică au dovedit că reticulul endoplasmic rugos este prezent în toate celulele care intră în alcătuirea corpului omenesc cu excepţia hematiilor mature (fig. 39). Se constată însă mari variaţii ale aspectului general al reticulului endoplasmic rugos, de la o celulă la alta, şi chiar la aceeaşi celulă după topografia lui. Alfa-citomembranele sînt foarte bogat dezvoltate în celulele angajate activ în sinteza de proteine pentru export. Aşa este cazul celulelor din glandele salivare, din pancreasul exocrin, plasmocitele şi unele celule nervoase. Aproximativ 34% din volumul citoplasmei celulelor din pancreas este ocupat de cisterne acoperite cu ribozomi. Alfa-citomembranele celulelor pancreasului exocrin sînt dispuse în porţiunea bazală a celulei, sub formă de cisterne fenestrate, paralele, legate prin ramuri şi anastomoze, pentru a forma arii sau stive. În secţiune, reticulul apare de aspectul unor profiluri mici, circulare, ovale de 400—1 000 Å în diametru, dispuse în şiruri paralele, separate prin spaţii de 1 000—1 500 Å grosime. Un aspect similar este întîlnit şi la celulele acinului parotidian, la celulele hepatice şi în neuronii vertebratelor. Existenţa unui reticul endoplasmic rugos, abundent, poate fi remarcată şi în celulele organului Corti, în epiteliul tiroidian, în nefrocite etc. Alfa-cito-

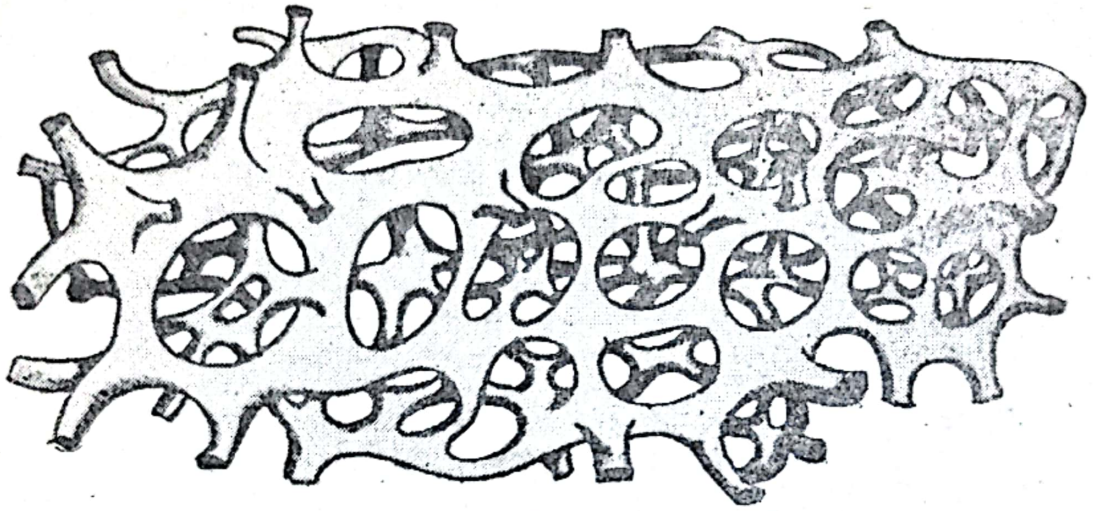


Fig. 40. Structura tridimensională a reticulului endoplasmic agranular.

membranele celulelor embrionare lipsesc în timpul primelor stadii de diferenţiere. Pe de altă parte, reticulul endoplasmic rugos dispare, în cursul maturării reticulocitelor şi a trombocitelor. Reticulul endoplasmic granular prezintă în genere un mare grad de labilitate. Se pot remarca modificări frecvente deformă, se pot distinge zone fixe şi altele foarte mobile, ce dispar şi se formează după condiţiile metabolismului citoplasmatic local. Elementele constitutive sînt capabile să se întindă sau să se restrîngă, să se dilate sau retracte, să dispară pentru ca apoi să se refacă.

Beta-citomembranele sau reticulul endoplasmic agranular

În contrast cu reticulul endoplasmic granular, reticulul endoplasmic de tip ocupă întreaga citoplasmă, sub forma unui complex de tubuli cu un diametru de tubuli ce au un diametru între 300—1 000 Å. Adeseori, în celule apare aspectul unei reţele complexe de tubuli de formă neregulată (fig. 40).

S-a remarcat că reticulul endoplasmic agranular este mai dezvoltat în celulele a căror funcţie principală este sinteza sau depozitarea steroizilor şi a lipidelor. De exemplu, în celulele interstiţiale din testicul, reticulul endoplasmic agranular ocupă întreaga citoplasmă, sub forma unui complex de tubuli cu un diametru de 300—400 Å. Aceşti tubuli se bifurcă în mod frecvent, se ramifică şi se anastomozează pentru a forma un complex sub formă de reţea. Trebuie menţionată de asemenea prezenţa unui reticul endoplasmic neted dezvoltat în celulele din corticosuprarenală, care sînt cunoscute ca secretoare, de derivaţi ai steroizilor. Interesant este faptul că în beta-citomembranele acestor celule au fost puse în evidenţă şi enzimele active în sinteza steroizilor. Reticulul endoplasmic neted este evident şi în celulele adipoase din grăsimea brună şi albă, precum şi în celè mai multe celule mature din glandele sebacee. Reticulul endoplasmic agranular din celulele luteinice de la şobolancă se prezintă sub formă de cisterne fenestrate şi turtite care formează o reţea intim asociată mitocondrei.

O formă specializată de beta-citomembrane o întîlnim în fibrele musculare. Sistemul de citomembrane netede din elementele musculare este denumit reticul sacroplasmatic sau sistem sarco-tubular. Se cunosc cîteva cazuri de celule,

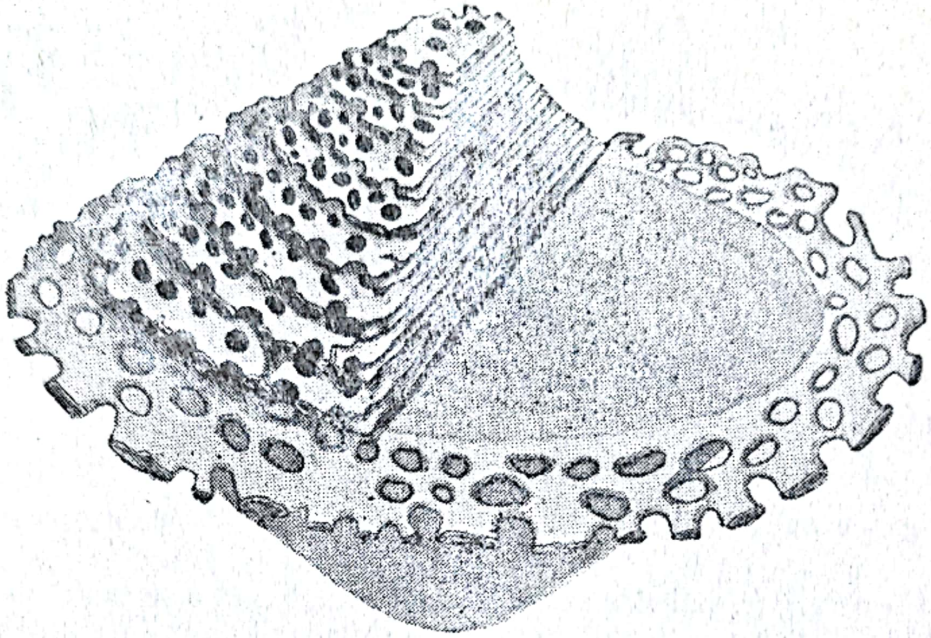


Fig. 41. Reticul endoplasmic agranular şi corpii mieloizi în celulele pigmentare din retina de broască.

unde reticulul endoplasmic neted este dispus concentric în cercuri, mai mult sau mai puţin compacte, compuse din lamele a căror dispoziţie aminteşte foile de ceapă. Asemenea aspecte au fost descrise în celulele glandulare ale adenohipofizei. Datorită asemănării lor cu paranucleii au fost numiţi *paranuclei endoplasmici*. Formaţiuni similare au fost descrise şi în celulele hepatice supuse unor injurii cronice (după hepatectomie experimentală sau după administrare de tioacetamidă).

În celulele epiteliului pigmentar din retină, reticulul endoplasmic neted este foarte abundent şi formează structuri tubulare (diametrul 750 Å) care ocupă aproximativ 50% din suprafaţa porţiunii bazale a celulei. Aceste structuri alcătuiesc aşa-numiţii *corpi mieloizi*. De altfel, în interiorul corpilor mieloizi beta-citomembranele se dispun în forma unor lentile biconvexe, de aspectul unor conuri duble (de 4—5 microni în axul lung) dispuse în stive (fig. 41). La marginea lor, citomembranele prezintă fenestraţii sau creste, care se pun în contact cu reticulul endoplasmic neted general al celulei. Asemănarea beta-citomembranelor din celulele pigmentare cu structurile fotoreceptoare a sugerat ideea că şi aceste dispozitive membranoase pot fi implicate direct în recepţia luminii. Se poate crede că acest sistem de citomembrane ar putea interveni, în metabolismul vitaminei A şi în conversiunea rodopsinei.

Se poate comchide că reticulul endoplasmic neted prezintă particularităţi structurale caracteristice pentru fiecare tip de celulă, şi că aceste particularităţi structurale sînt în legătură cu heterogenitatea funcţională a celulelor respective.

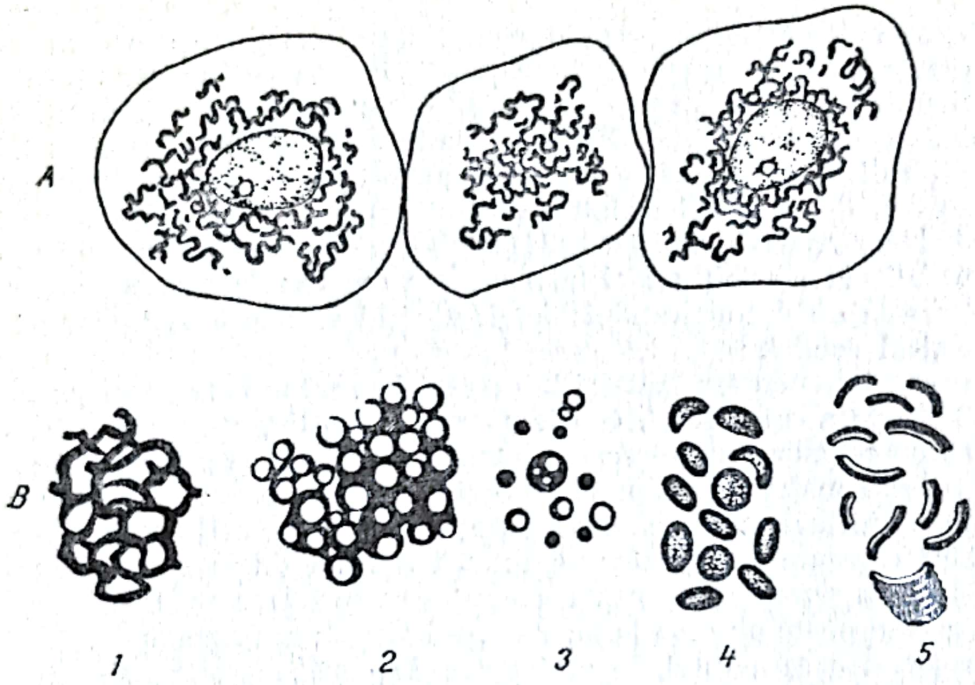


Fig. 42.

A — Reţeaua Golgi din celulele ganglionului spinal (după Bensley); B — aspecte variate ale sistemului Golgi văzute la microscopul luminescent:

1 — „aparat reticular intern" al lui Golgi; 2 — vezicule osmiofobe înconjurate de material osmiofil ce pot fi greşit interpretate drept reţea; 3 — lipocondria; 4 — plăcuţe osmiofile; 5 — lepidozomi (după Baker şi Mirschi).

Gama-citomembranele sau complexul Golgi.

Complexul Golgi, organit citoplasmic ubicutar, este o formă specială de organizare a sistemului de membrane intracelulare, mai precis o parte diferenţială a sistemului vacuolar citoplasmatic. Acestui complex de membrane i se atribuie un rol important în secreţia celulară. Numeroase date furnizate de către microscopia fotonică şi electronică, de histochimie şi radioautografie dovedesc că vechea denumire de „aparat Golgi" este improprie şi sînt de preferat termeni, ca: elemente, complex, sistem, regiune sau zonă Golgi.

În 1898, Camilo Golgi descrie pentru prima oară în citoplasma neuronilor din ganglionul spinal de bufniţă şi pisică cu ajutorul impregnărilor cu săruri de argint un sistem de reţea situat în jurul nucleului, sistem care a primit numele de „aparat reticular intern" (fig. 42). Kopsch în 1902 semnalează că aparatul Golgi poate fi evidenţiat şi cu tetraoxid de osmiu. Prin compararea rezultatelor obţinute cu cele două metode s-a ajuns la concluzia că reţeaua originală Golgi ar putea fi rezultanta precipitării nitratului de argint în corpii osmiofili denumiţi lipocondrii. Corpii osmiofili ar fi compuşi dintr-un număr mare de vezicule de mărimi diferite, delimitat de un înveliş capabil să reducă tetraoxidul de osmiu — *substanţa cromofilă*. Învelişul osmiofil delimitează în interior substanţa cromofobă. Reţeaua Golgi apare astfel ca o imagine negativă a substanţei osmiofile. În această perioadă s-a ajuns şi la concluzia că dictiozomii nevertebratelor descrişi de Gatenby (1917) şi Hirschler

Scanned with OKEN Scanner

(1918) sînt omologi cu structurile aparatului Golgi de la vertebrate. Dictiozomii prezintă o substanţă ce reduce argintul, însă au o formă de semilună, evidenţiindu-se la nivelul celulelor ca nişte corpusculi bine delimitaţi (B r i c e şi colab., 1946; G r e s s o n, 1950). Trebuie de asemenea arătat că în ciuda unor opinii divergente, asupra structurii aparatului Golgi majoritatea autorilor vechi au fost de acord să atribuie acestui organit un rol major în secreţia celulară. N a s s o n o v (1923—1924) şi B o w e n (1923, 1924, 1926) au demonstrat atît la amfibii cît şi la mamifere că diversele granule de secreţie iau naştere la nivelul aparatului Golgi, a cărui structură variază după stadiul funcţional al celulei.

Cu toate că numeroase fapte şi interpretări vechi în care se descriu structuri sub numele de aparat Golgi, considerate retrospectiv, apar incorecte, se poate totuşi reţine concluzia de mare importanţă, şi anume că prin metodele histologice clasice în majoritatea tipurilor de celule studiate, atît la vertebrate cît şi nevertebrate inclusiv protozoare s-a putut evidenţia în mod constant o arie citoplasmatică care are capacitatea să reducă nitratul de argint şi tetraoxidul de osmiu. Nu s-a semnalat prezenţa acestei structuri la alge, fungi sau bacterii. Zona Golgi se poate observa la *microscopul fotonic* prin metodele reducerii acidului osmic şi a azotatului de argint sau de cobalt, precum şi prin coloraţia vitală cu soluţii slabe de roşu neutru sau de albastru cresil. D a l t o n şi F e l i x (1953), cu ajutorul microscopului de contrast de fază, au demonstrat că „in vivo“ zona Golgi se prezintă sub forma unei reţele de canalicule însoţite pe traiectul lor de nişte microvezicule de aspect foarte labil. Pe preparatele histologice obişnuite, forma şi topografia complexului Golgi prezintă mari varietăţi de la un tip de celulă la altul şi în raport cu stadiul funcţional al aceluiaşi tip de celulă. Astfel, în celula nervoasă apare sub forma unei reţele întortocheate şi anastomozate, care are tendinţa de a înconjura nucleul. În alte tipuri de celule pare a avea o formă sferică, conică şi chiar cilindrică. Ca regulă generală, în celulele somatice de vertebrate complexul Golgi se află sub formă de reţea situat în apropierea nucleului. Alteori însă este situat în zona dintre nucleu şi polul apical al celulei. Au fost semnalate şi deplasări ale zonei Golgi o dată cu modificarea stării funcţionale a celulei. Astfel, în adamantoblaste el trece, la începutul elaborării smalţului, de la un pol al nucleului la cel opus. Acest complex poate fi deformat la nivelul fibrelor musculare netede ce se contractă. El pare să-şi revină la aspectul său normal, o dată ce se îndepărtează forţa care-l modifică. La prima vedere, s-ar putea crede că zona Golgi nu apare la microscopul fotonic decît după folosirea tehnicilor speciale de evidenţiere. Totuşi, pe preparatele colorate în mod obişnuit cu hematoxilină eozină, sau pe frontiurile de sînge colorate prin metodele uzuale, se poate detecta o arie clară în citoplasmă, la nivelul complexului Golgi. Aceste arii clare observate pe praparatele obişnuite au fost denumite *imagini negative ale zonei Golgi*. Imaginea negativă apare deci ca o zonă necolorată a citoplasmei ce conţine în afară de structurile Golgiene şi centriolii. Contrastul de colorabilitatea dintre imaginea negativă şi citoplasma din jur se datoreşte conţinutului diferit de ARN a celor două regiuni celulare. Zona Golgi este foarte săracă în ARN.

Complexul Golgi apare *la microscopul electronic*, cu o structură distinctă şi caracteristică, uşor de recunoscut în toate celulele. Elementul ultrastructural de

bază este membrana netedă, agranulară care se prezintă sub trei aspecte: a) pachete de saci aplatizaţi sau cisterne ce apar pe secţiunile ultrafine ca un ansamblu de perechi de membrane paralele; b) vacuole mari — macrovezicule dispuse la periferia zonei Golgi; c) vacuole mici — microvezicule grupate sub formă de ciorchine în jurul sacilor aplatizaţi şi a vacuolelor mari. Zona Golgi este lipsită de ribozomi.

Sacii turtiţi sînt aşezaţi de obicei în stivă, una peste alta, ca foile unei cărţi. În general, aceşti saculi au un lumen redus de 60—90 Å. Lumenul este închis de o membrană netedă de circa 60—70 Å. Sacii orientaţi de obicei paralel sînt separaţi între ei prin intervale ce variază de la 60—200 Å. Numărul sacilor din complexul Golgi variază considerabil, depinzînd de funcţia şi de tipul celulei. Dictiozomii nevertebratelor au un număr mai mare de saci aplatizaţi decît complexele golgiene ale vertebratelor. Aşa cum se poate observa în figura 43 la periferie, sacii prezintă porţiuni mai dilatate. Porţiunile destinse ale sacilor printr-un proces de pensare dau naştere macroveziculelor golgiene.

Macroveziculele apar sub formă de vezicule ovoide — rotunjite, destinse, ce înmuguresc la nivelul extremităţilor veziculelor turtite, avînd un diametru de 2 000—6 000 Å. Deoarece aceste formaţiuni sînt înconjurate de un perete membranos identic cu cel al sacilor, iar conţinutul lor este reprezentat de un material ce va fi elaborat către suprafaţa celulei, există tendinţa ca ele să fie denumite vezicule secretorii. Macroveziculele sînt abundente în special la nivelul complexului Golgi din celulele în plină activitate secretorie şi lipsesc în celulele secretorii inactive sau celulele nesecretorii înalt diferenţiate. Conţinutul veziculelor secretorii este la început fluid şi nu poate fi distins pe secţiunile ultrafine. Pe măsură ce macroveziculele se maturează, ele se îndepărtează de sacii turtiţi, iar conţinutul lor începe să prezinte o densitate crescută la fluxul de electroni.

Microveziculele — vezicule mici — apar pe secţiunile ultrafine, sub forma unor corpuscoli mici eliptici, ovalari sau tubulari, cu un diametru de aproximativ 300—600 Å (fig. 43). În unele celule, microveziculele sînt numeroase în regiunea dintre reticulul endoplasmic rugos şi sacii turtiţi golgieni. Aceasta sugerează ideea că veziculele mici transportă la sacii aplatizaţi (din regiunea Golgi) materialul proteic care a fost sintetizat la nivelul reticulului endoplasmic rugos.

Despre geneza citomembranelor.

Pînă în prezent nu s-a putut stabili precis originea citomembranelor. Au fost implicate pe rînd membrana nucleară, membrana plasmatică, mitocondria, dar nu au fost aduse dovezi convingătoare în favoarea vreunei ipoteze. Pot fi însă reţinute unele observaţii pentru semnificaţiile lor. Aşa, de exemplu, se constată că la embrionul de pasăre, între a 15-a şi 16-a zi dezvoltare, citoplasma celulelor pancreasului prezintă mitocondrii, zona Golgi şi numeroşi ribozomi, dar sînt complet lipsite sau foarte sărace în reticul endoplasmic rugos. În schimb, în a 19-a şi 21-a zi a dezvoltării, celulele pancreatice prezintă citomembrane rugoase bine dezvoltate, aranjate caracteristic şi asemănător structurii celulelor adulte. Într-un studiu pe spermatogoni de *Drosophila virilis*, I t o (1960) observă că în timpul mitozei reticulul endoplasmic persistă sub

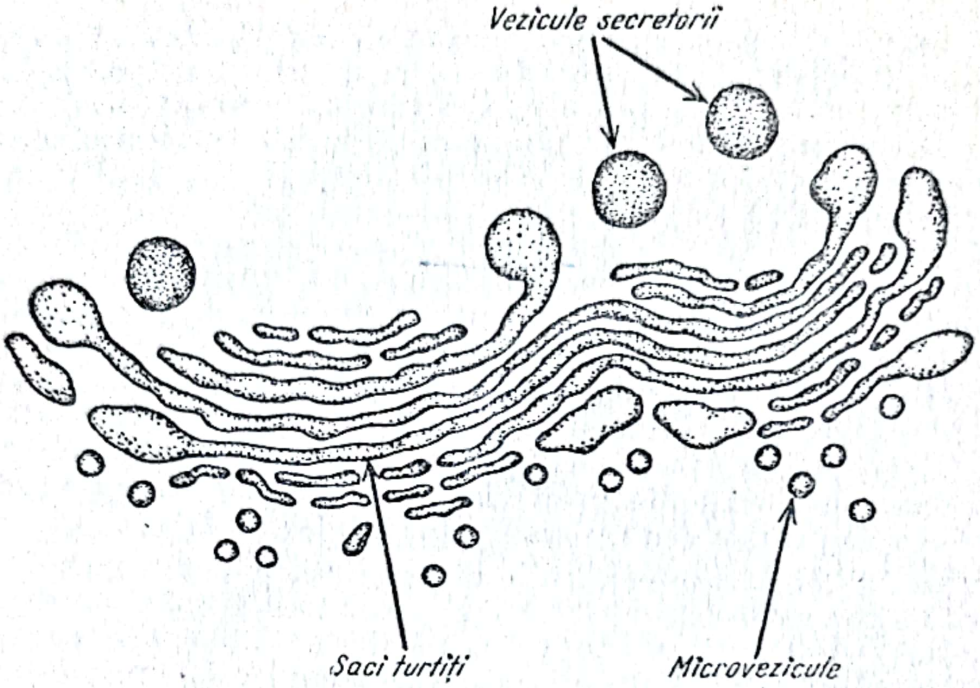


Fig. 43. Zona Golgi formată din microvezicule, saci turtiți și vezicule secretorii.

forma unor perechi de membrane aplicate stîns la suprafața fusului și integrate în structura asterilor. Există unele indicații că în timpul metafazei resturi de membrană nucleară și reticul endoplasmic, din celulele parentale, s-ar distribui mai mult sau mai puțin egal la celulele-fiice. În genere, se consideră că reticulul endoplasmic nu se dezvoltă în timpul fazelor de proliferare la nici o linie celulară.

Interrelațiile citomembranelor.

Numeroase observații au acreditat ideea că diferitele tipuri de reticul endoplasmatic se pot trasforma unul în altul sau că între membranele sistemului vacuolar și celelalte membrane celulare (ca membrana plasmatică sau membrana nucleară) ar exista relații de continuitate. În acest senss trebuie semnalat în primul rînd că pe baza asemănării ultrastructurale și a relațiilor de continuitate dintre alfa-citomembrane și membrana nucleară externă se admite în prezent că spațiul perinuclear este o extindere a sistemului vacuolar. Pe de altă parte s-au putut constata unele contacte sau puncte de continuitate între reticulul endoplasmic și membrana plasmatică. Aceasta sugerează că, cel puțin intermitent, membrana plasmatică se poate continua cu membranele reticulului endoplasmic. Probabil prin acest mecanism, picăturile de grăsime absorbite la suprafața celulelor intestinale traversează reticulul endoplasmic. Consecințele acestei continuități chiar intermitente sînt fiziologic importante. În mod evident, spațiul perinuclear este în comunicare directă cu exteriorul celulei, pe calea cisternelor citomembranelor.

În sfîrșit, unii autori au atras atenția asupra interrelațiilor ultrastructurilor complexului Golgi cu celelalte componente celulare. Frecvent, pe secțiunile ultrafine, s-au putut observa prolabări ale membranei nucleare, pe latura în-

dreptată către zona Golgi. Această corelaţie nucleu-complex Golgi, surprinsă în special la nivelul celulelor tumorale, a dus la ideea că în unele împrejurări membrana nucleară poate contribui la formarea membranelor complexului Golgi. Pe de altă parte, s-a putut observa la microscopul electronic, pe enterocitele ileonului de şobolan, că membrana plasmatică poate da naştere membranelor netede golgiene. În afară de corelaţia dintre complexul Golgi şi membrana plasmatică sau membrana nucleară s-a putut observa frecvent continuităţi structurale cît şi funcţionale între reticulul endoplasmic rugos şi complexul Golgi. În vecinătatea zonei Golgi, reticulul endoplasmic rugos ia un aspect vezicular, îşi pierde ribozomii şi se transformă în membrane agranulare, netede. Datorită acestui fapt, anumiţi cercetători au înclinat să limiteze sistemul Golgi numai la cisterne şi macrovezicule, considerînd veziculele mici ca structuri „de transport" ce asigură legătura dinamică dintre zona Golgi şi reticulul endoplasmic.

Citochimia diferitelor tipuri de citomembrane poate fi investigată fie prin reacţii citochimice şi citoenzimologice, fie prin microanaliza fracţiunilor de citomembrane. Trebuie remarcat de la început că heterogenitatea sistemului vacuolar constituie o mare dificultate pentru cunoaşterea citochimiei lui. Microanalizele s-au făcut pe fracţiuni de reticul endoplasmic obţinut prin ultracentrifugare. Fracţiunile de citomembrane rezultate din ultracentrifugare au fost denumite *microzomi*. Microzomii sînt fracţiuni din citomembrane foarte heterogene. Ei cuprind fragmante de alfa-, beta- şi gammacitomembrane, fragmente de membrane nucleare, membrane plasmatice şi granule de ribozomi (fig. 44). Microzomii constituie aproximativ 15—20% din masa totală a celulei.

Datorită granulelor de ribozomi ataşate alfa-citomembranelor precum şi a antrenării în ultracentrifugat şi a ribozomilor liberi, microzomii au un conţinut ridicat de ARN (80—90% din ARN-citoplasmatic). Ei au însă şi un conţinut crescut lipidic. Între acestea se remarcă fosfolipide, inozitol, acetilfosfatide (plasmalogen) şi gangliozide. Complexitatea compoziţiei chimice a microzomilor este reflectată de conţinutul mare în enzime. În membranele microzomale s-au identificat nucleozidaze şi NAD citocrom-reductaza, care sînt considerate ca marker al acestor membrane. Prin nucleotid-difosfataze, microzomii participă la biosinteza fosfatidelor, acidului ascorbic, glucuronidului, precum şi la metabolismul hexozelor. În plus, se poate considera că sînt implicaţi şi într-o serie de reacţii care solicită $NADPH_2$ şi O_2. S-a putut constata că intervin şi în sinteza gliceridelor, fosfolipidelor, glicolipidelor şi plasmalogenului. În fracţiunea microzomală s-a mai evidenţiat şi glucozo-6-fosfataza, cantităţi reduse din citocromul c, citocrom b_5 şi citocromul P-450. În microzomii obţinuţi din ultracentrifugarea celulelor hepatice, în funcţie de stadiul digestiei se poate observa şi glicogen, feritină şi unele picături de lipide. Trebuie remarcat că o mare parte din datele de care dispunem cu privire la compoziţia chimică a microzomilor se bazează în principal pe analiza unor *particule care din punct de vedere morfologic sînt impure*.

Recent, graţie unor metode elaborate de G. P a l a d e şi colab. (metoda gradientului cu densităţi discontinue şi metoda flotării) a devenit posibil ca din fracţiunea microzomală să se obţină subfracţiuni (ultramicrozomi), compuse exclusiv din ribozomi sau din membrane. Pe baza acestei metode s-a putut dovedi că ARN-microzomal aparţine exclusiv particulelor ribozomale şi nu membrane-

Scanned with OKEN Scanner

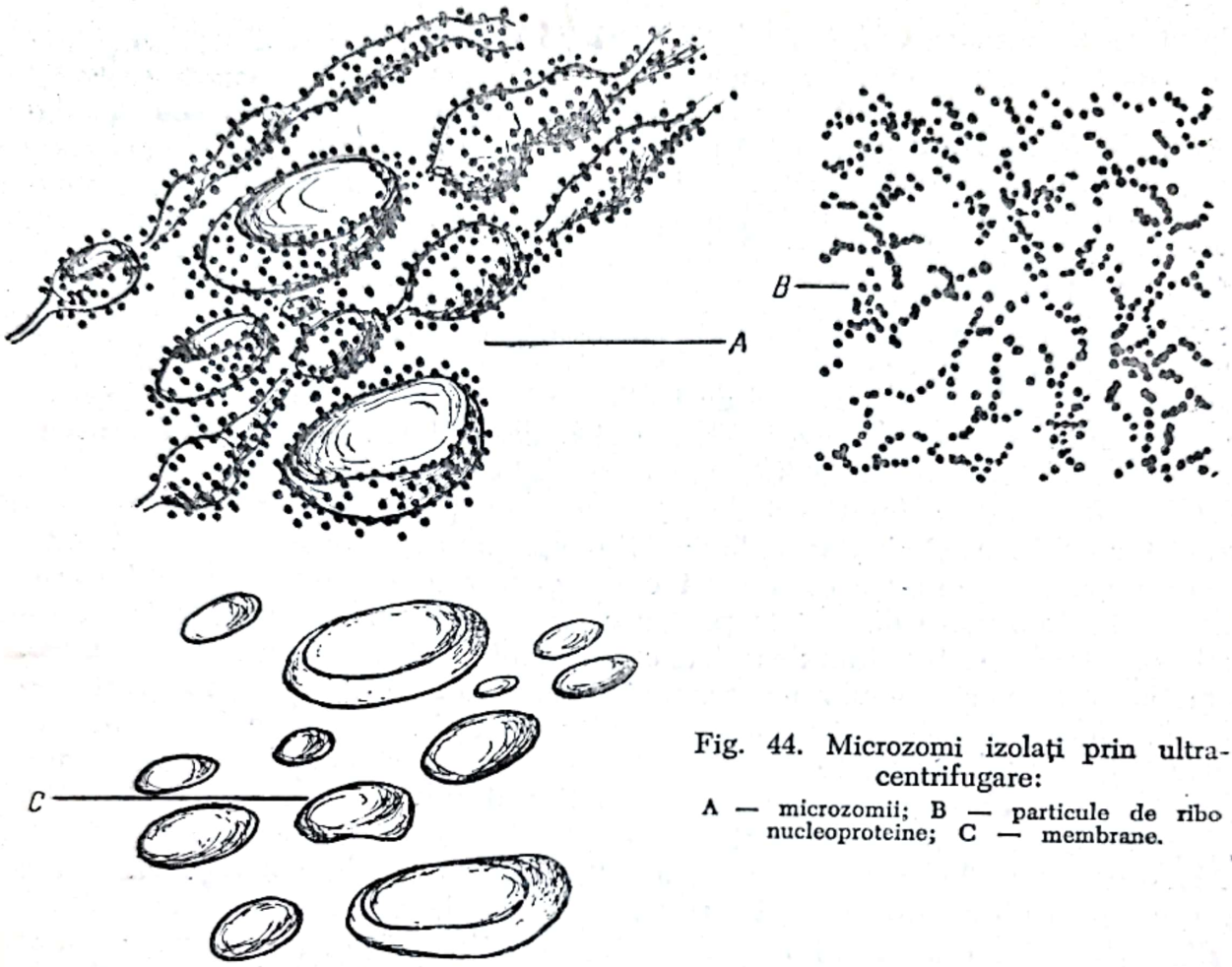


Fig. 44. Microzomi izolaţi prin ultracentrifugare:
A — microzomii; B — particule de ribonucleoproteine; C — membrane.

lor. De asemenea se crede că numai un mic număr de enzime pot fi considerate componenţi esenţiali ai reticulului endoplasmic. Rezultate interesante s-au obţinut însă în cunoaşterea citochimiei gammacitomembranelor, graţie faptului că este posibilă izolarea în stare îndeajuns de pură a zonei Golgi a celulelor epididimare. Analiza biochimică a zonei Golgi atestă un conţinut bogat de fosfolipide (K u f f şi D a l t o n, 1959) şi cantităţi aproximativ egale de proteine.

În continuare, Kuff şi Dalton (1960) au demonstrat că zona Golgi prezintă o cantitate redusă de acid ribonucleic, însă o mare concentraţie de fosfatază acidă. Coroborînd observaţiile histochimice cu cele de microscopie electronică, N o v i k o f f şi colab. (1961, 1962), precum şi A l l e n şi S l a t e r, 1961, 1963) au observat că zona Golgi se caracterizează întotdeauna printr-o activitate crescută a nucleozid-difosfatazelor, în principal guanozin, uridin- şi inozin-difosfatazele, precum şi pentru tiaminpirofosfatază. Pe baza acestor constatări se poate conchide că membranele golgiene sînt sediul unor procese metabolice active. Este probabil că activitatea acestor enzime să fie în legătură cu procesele secretorii la care participă complexul golgian.

Citofiziologia reticulului endoplasmic.

Sistemului vacuolar i se atribuie următoarele roluri: *Sistem mecanic de susţinere, suportul transportului intracelular activ şi sediul sintezei unor produse destinate exportului.*

1. Rolul de *suport mecanic* al reticulului endoplasmic poate fi dedus din faptul că el separă două compartimente de consistenţă diferită — matricea citoplasmică, de spaţiul intermembranos. Este evident că acest sistem poate constitui un suport mecanic alături de matrice.

2. *Implicarea reticulului endoplasmic în transportul intracelular activ* se bazează în primul rînd pe dispoziţia sa similară cu un sistem circulator intracelular, care prezintă conexiuni cu spaţiul perinuclear şi cu exteriorul celulei. Pe această bază s-a emis părerea că transportul activ, volumul şi direcţia curentului în sistemul reticulului endoplasmic ar putea fi controlat la nivelul complexului Golgi.

Citomembranele sistemului vacuolar sînt sediul unor intense schimburi de apă. În adevăr, după izolare microzomii îşi măresc sau îşi micşorează volumul în raport cu presiunea osmotică a fluidului. Acest fapt ar putea fi considerat ca un factor favorizant al difuziunii produşilor în lungul membranelor şi al transportului activ intracelular.

În sfîrşit, rolul reticulului endoplasmic în transportul activ intracelular este ilustrat de experienţele pe fibrele musculare. Cu această ocazie s-a dovedit că sistemul sarcotubular al ţesutului muscular (sau reticulul sarcoplasmic) este sediul transmiterii impulsurilor contractile de la suprafaţa membranei, la regiunile profunde ale fibrelor musculare. În acest context, membrana reticulului sarcoplasmic separă două compartimente diferite în celulă, este polarizată electric şi este capabilă de conducerea impulsului în interiorul fibrei musculare, pentru a activa elementele contractile.

3. Cel mai amplu studiat este *rolul reticului endoplasmic în secreţia celulară*, respectiv în sintetizarea unor produşi destinaţi exportului (excreţiei celulare). În legătură cu aceasta, în ultimii 15 ani s-au efectuat un număr considerabil de studii. Cele mai importante sînt sintetizate în *teoria lui Palade* asupra mecanismului sintezei proteinelor secretorii. Conform acestei teorii, spre deosebire de sinteza proteinelor structurale al căror sediu este ribozomul, sinteza proteinelor pentru export se efectuează la nivelul reticulului endoplasmic rugos. Pe baza determinărilor efectuate pe celula epitelială din pancreasul exocrin, Palade stabileşte următoarele etape ale procesului secretor: a) Sinteza proteinelor secretorii la nivelul ribozomilor ataşaţi (circa 1 minut). b) Transferul acestor proteine de pe ribozomi în spaţiul dintre membranele reticulului endoplasmic rugos (durată 3—5 minute). În spaţiul cisternal în mod ocazional se pot forma granule intracisternale. c) Transferul proteinelor secretorii din spaţiul intracisternal în vacuole de condensare ale complexului Golgi (20—40 minute). d) Transformarea vacuolelor golgiene în granule de zimogen (1 oră). e) Depozitarea temporară a acestor granule în regiunea apicală a celulei. f) Într-o ultimă etapă, conţinutul granulelor de zimogen este descărcat în lumenul acinului glandular prin fuzionarea membranei granulei cu membrana celulară.

Este de remarcat că spre deosebire de proteinele de structură (a căror sinteză se face la nivelul ribozomilor liberi şi într-un timp foarte lung), proteinele destinate exportului sînt sintetizate la nivelul ribozomilor legaţi de citomembrane (la nivelul alfa-citomembranelor), iar sinteza lor se efectuează într-un timp foarte scurt (de 1 minut sau chiar mai puţin). După ce au fost sintetizate,

Scanned with OKEN Scanner

proteinele destinate exportului sînt transferate prin sistemul de citomembrane (alfa-citomembrane — gammacitomembrane — granule secretorii), în circa 1 oră şi jumătate.

Cu teoria lui Palade asupra sintezei proteinelor destinate secreţiei celulare se încheie una dintre cele mai vechi şi cele mai pasionante dispute din citologie — cea referitoare la raportul dintre substanţa bazofilă şi secreţia celulară. Dar, totodată această teorie constituie şi o magistrală demonstraţie că în citologia modernă nu se mai pot face delimitările clasice între morfologice, fiziologie şi biochimie.

Rolul reticulului endoplasmic în procesele de sinteză intracelulară este demonstrat şi de relaţia constatată între reticulul endoplasmic neted şi metabolismul glicogenului. În adevăr s-a putut observa că reticulul endoplasmic agranular este foarte bogat dezvoltat în regiunile în care se depozitează glicogenul. Pe de altă parte, prezenţa glucozo-6-fosfatazei în citomembranele netede dovedeşte relaţia acestor structuri cu glicogenoliza. Reticulul endoplasmic neted este asociat şi cu alte procese metabolice, şi anume cu sinteza materialelor lipidice pentru export. În acest sens pledează gradul înalt de dezvoltare a acestor structuri în celulele care sintetizează hormoni steroizi (celulele corticosuprarenalei, celulele glandelor interstiţiale etc.), precum şi în lipocite.

BAZELE CELULARE ALE MIŞCĂRII. CENTRUL CELULAR, CILII, FLAGELII ŞI MIOFIBRILELE.

CICLOZĂ ŞI MIŞCAREA AMIBOIDALĂ

Printre formele de energie produse de materia vie este şi energia mecanică. Cel mai adesea, energia mecanică este utilizată sub diferite *forme ale mişcării celulare*. Mişcările cunosc un mare grad de extindere, diversificare şi specializare la celulele care alcătuiesc metazoarele superioare. Diferitele tipuri de mişcări ale celulelor care intră în componenţa corpului omenesc ar putea fi sistematizate în patru grupe, după cum urmează:

Cicloza sau mişcările intracelulare, care nu implică schimbări în poziţia celulei. Asemenea mişcări se întîlnesc la toate tipurile de celule. Exemplu de cicloze sînt curenţii citoplasmatici şi mişcările intracelulare din timpul diviziunii mitotice.

Mişcările amiboidale care implică deplasarea întregului corp celular. Astfel de mişcări constituie proprietatea *specifică* a unor celule mature ca leucocitele sanguine sau celule conjunctive; sînt o insuşire, *comună* a celulelor în timpul dezvoltării embrionare, sau sînt o proprietate *dobîndită* de celulele plăgilor ce se cicatrizează, sau de celulele tumorale.

Mişcările ciliare şi flagelare. Sînt mişcări executate de organoizi speciali diferenţiaţi.

Scanned with OKEN Scanner

Mişcările de muscularitate, al căror suport material este constituit de fibrile citoplasmatice specifice.

Substratul molecular al tuturor tipurilor de mişcări pare să fie constituit de o *proteină contractilă* care are capacitatea de a hidroliza legăturile fosfat-macroergice de tipul acidului adenozintrifosforic (ATP).

În modul cel mai general, *sediul mişcărilor celulare* (al proteinelor contractile) trebuie considerată *matricea citoplasmică*. În sau din, matricea citoplasmică se diferenţiază organite citoplasmice bogate în proteine contractile care preiau diferite tipuri de mişcări. Dintre aceste organite cele mai bine cunoscute sînt: *miofibrilele*, *aparatul mitotic (respectiv centrul celular)*, *cilii* şi *flagelii*.

Dacă substratul molecular al mişcărilor celulare este localizat în matrice, se pare că citomembranele sînt sediul coordonării şi controlului acestor mişcări.

În cele ce urmează ne vom ocupa pe rînd de *centrul celular* (aparatul mitotic va fi descris la diviziunea celulară), *de cili, de flageli, de miofibrile* şi în încheiere vom prezenta *mişcarea de cicloză* şi cea *amiboidală*.

CENTRUL CELULAR

Centrul celular ste un organit citoplasmic care a fost observat în celulele animalelor pluricelulare, ale protozoarelor şi la unele plante inferioare. El a fost descris pentru prima oară de către F l e m m i n g în 1875 şi de către B e n e d e n în 1876.

Structura microscopică. Centrul celular prezintă aspecte morfologice diferite în raport cu stadiul ciclului vital al celulei respective. În intercineză, observat la microscopul fotonic, centrul celular apare sub forma unui corpuscul intens cromatic (se colorează în negru cu hematoxilină ferică Hendenheim). Studiat la microscoape obişnuite dar cu putere de mărire mai mare, s-a putut constata că acest organit este alcătuit dintr-o formaţiune de aspectul unui grăunte numit *centrozom*, în centrul căruia se găsesc 1—2 granule mai fine — *centriolii*. Centrozomul se află înconjurat de o masă citoplasmică densă şi de aspect omogen care, împreună cu centrozomul, formează *centrosfera*. În unele celule, centrozomii sînt dubli, căpătînd denumirea de *diplozomi*. Cei doi diplozomi care sînt destul de apropiaţi unul de celălalt par uniţi de o bandeletă citoplasmică densă — *centrodesmoză*.

În timpul diviziunii celulare, centrul celular capătă un aspect mai complex. De la periferia centrosferei pornesc filamente citoplamice radiare, ce străbat citoplasma ca razele unui astru, constituind *asterul*. Figura morfologică pe care o îmbracă centrul celular în timpul cinezei, figura alcătuită din centrosferă şi aster, poartă numele de *astrosferă*, care de fapt reprezintă *aparatul acromatic* sau mitotic.

Centrul celular este echivalent cu *corpusculul bazal* cînd este vorba de celulele epiteliale ciliate, sau cu *corpusculul blefaroplastic* în cazul celulelor flagelate.

Ultrastructura centriolului. La microscopul electronic, centriolul apare ca un cilindru mic de 0,5 microni lungime şi 0,15 microni diametru. Miezul cilindru-

Scanned with OKEN Scanner

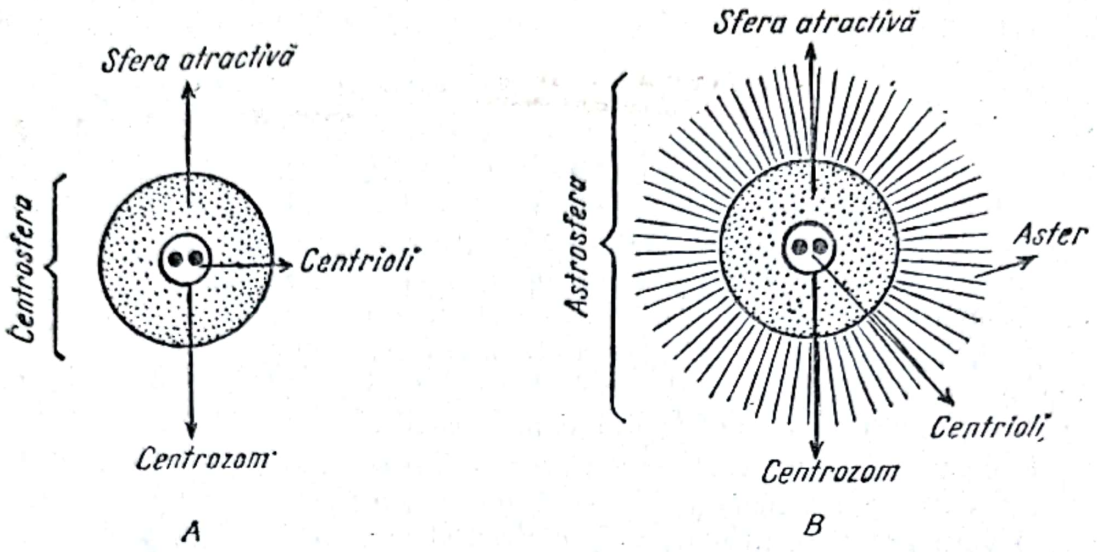


Fig. 45. Structura centrului celular:
A — în intercineză; B — în timpul cinezei celulare.

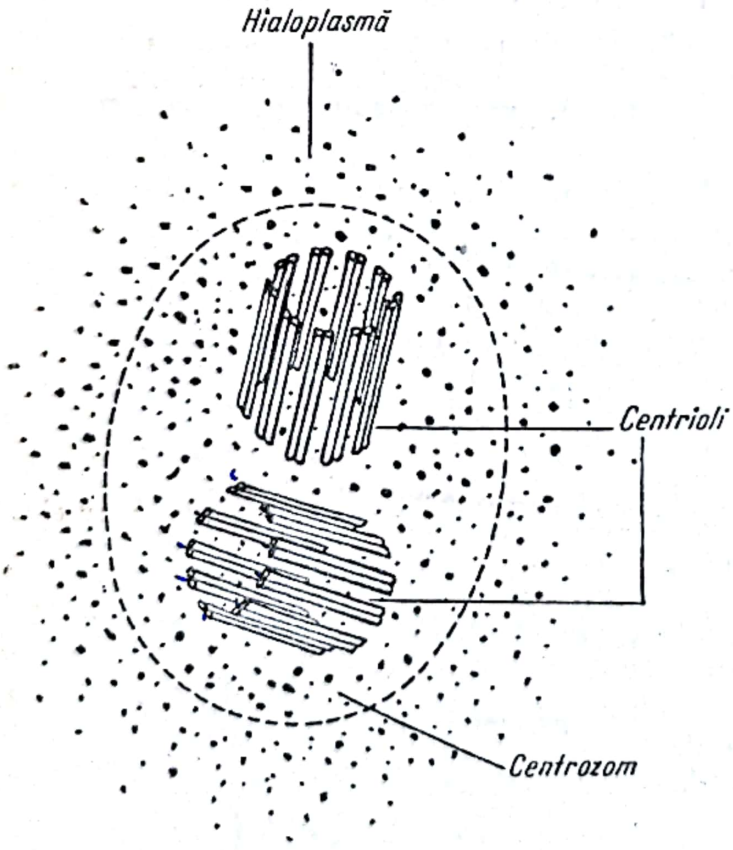


Fig. 46. Ultrastructura centrului celular (după Obré, Campan şi Chanton).

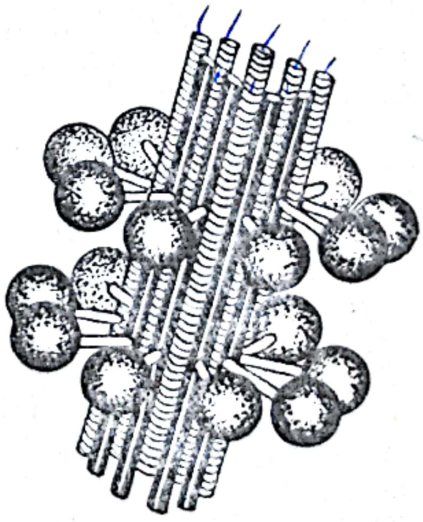


Fig. 47. Reprezentarea spaţială a centrului celular (după Obré, Campan şi Chanton).

Scanned with OKEN Scanner

lui prezintă o densitate mică la fluxul de electroni, în timp ce peretele lui este foarte dens. Acest perete este alcătuit din 9 tubuli (cel mai adesea dubli sau tripli), care au un diametru de 150—200 Å şi sînt paraleli cu axul centriolului. Cei doi centrioli ai centrului celular sînt plasaţi perpendicular unul pe altul; de obicei unul din ei este mai mic (fig. 46).

Cercetările asupra leucocitelor şi ale altor celule au arătat că unii centrioli posedă o construcţie mult mai complicată. În aceste cazuri s-au descris aşa-numitele structuri *pericentriolare*, ce constau din mase rotunde, dense electronic, cu diametrul de circa 700 Å. Aceste mase au aspectul de dublă coroană ce înconjură cilindrul şi fiecare din aceste elemente este reunit printr-o punte, de tubulii centriolului (fig. 47).

Centriolul este plasat de obicei în apropierea nucleului, avînd o poziţie fixă şi axială. Linia care uneşte centriolul cu nucleul marchează axul celular. S-au putut remarca strînse relaţii între centrioli şi zona Golgi sau mitocondrii. Adeseori se poate observa dispunerea zonei Golgi în jurul centrului celular.

O descoperire importantă a fost faptul că centriolii nu se divid în înţelesul obişnuit al cuvîntului. Centriolul parental dă naştere unui corpuscul minuscul, centriolul filial. Se poate admite că un asemenea mod de reproducere are loc la vertebrate, imaginile electronomicroscopice arătînd că centriolii filiali se află în contact cu cei iniţiali, localizîndu-se în unghi drept pe suprafaţa cilindrului patern.

Centrul celular este un *centru cinetic* al celulei. El coordonează atît mişcările celulare interne (în timpul diviziunii), cît şi mişcările externe ale celulelor ciliate şi flagelate.

CILII ŞI FLAGELII

Mişcările produse de cili şi flageli reprezintă un exemplu de locomoţie ce interesează numai anumite porţiuni ale celulei. Sînt mişcări ce posedă un caracter de activitate cinetică specializată, furnizată de către apendici speciali diferenţiaţi — cilii vibratili şi flagelii. În general, expansiunile celulare mici şi numeroase se numesc *cili*, în timp ce expansiunile lungi şi reduse ca număr se numesc *flageli*. Între cele două extreme există forme intermediare.

Numeroase celule ce aparţin regnului vegetal şi animal sînt înzestrate cu unul sau mai mulţi flageli. Aşa este cazul protozoarelor flagelate, al spermatozoizilor şi a unor celule epiteliale.

Cilii vibratili sînt organite de locomoţie caracteristice infuzorilor ciliari. La om vom întîlni celule prevăzute cu cili în epiteliul căilor respiratorii şi în epiteliul tractusului genital.

Structura cililor. Aparatul ciliar este format din trei componenţi principali: *cilium* proces cilindroid subţire ce se observă la suprafaţa liberă a celulei; *corpuscul bazal* sau granula bazală, organit intracelular sinonim cu blefaroplastul, kinetosom sau centriol distal. Acest corpuscul se află situat la baza unui cil şi este format din două elemente: o granulă care reduce puternic sărurile de argint *granula infraciliară* şi un corpuscul satelit, slab argirofil, care apare cu

Scanned with OKEN Scanner

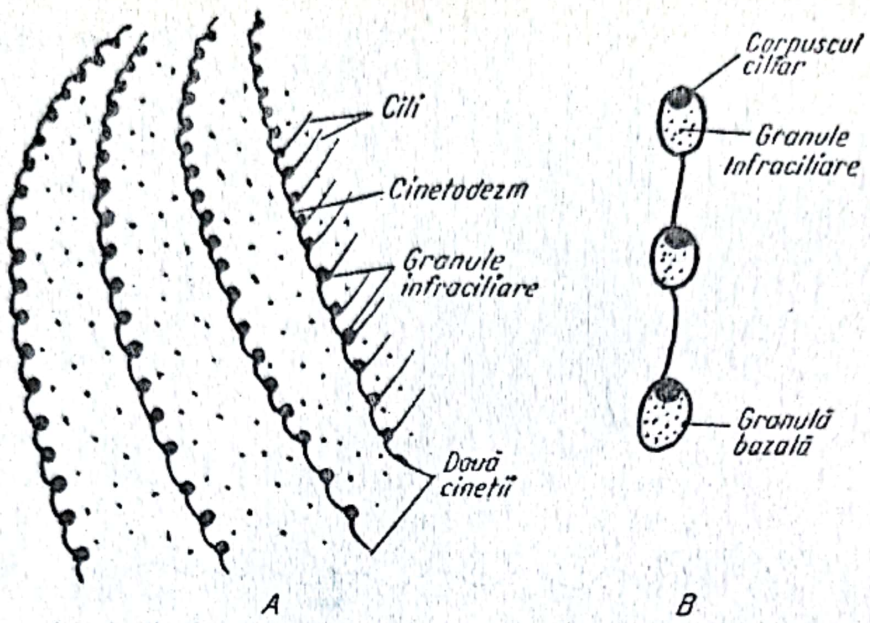


Fig. 48.
a — Infraciliatura Glaucomei piriformis (după Chatton şi Brachon);
b — structura granulelor bazale (după Obré, Campan şi Chanton).

cilul şi dispare cu el, *corpusculul ciliar* (fig. 48). De la acest centriol, la unele specii poate pleca spre interiorul citoplasmei fibrile fine, *rădăcinile ciliare*, denumite adeseori şi *rizoplaste* Aceste rădăcini se apropie unele de altele şi se termină în apropierea nucleului. *Numărul* cililor la unele celule ale animalelor pluricelulare poate ajunge pînă la 300, iar la protozoare pînă la 14 000. *Lungimea* lor nu depăşeşte 5—10 microni. Cilii în general sînt filamente extrem de delicate, a căror *grosime* este la limita de rezolvare a microscopului luminescent. Din această cauză, nu li se observă o structură internă.

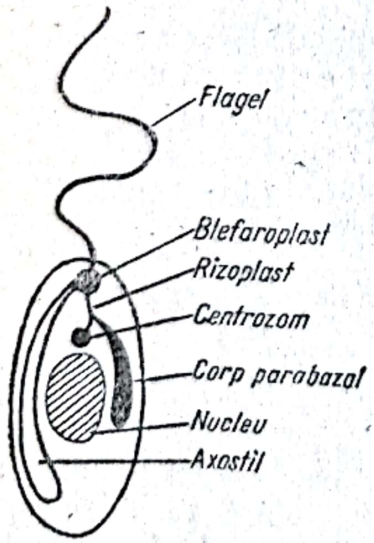


Fig. 49. Protozoar flagelat cu aparatul locomotor sau cinetidul (după Obré, Campan şi Chanton).

Porţiunile bazale ale cililor sînt reunite între ele prin stria infraciliară sau cinetodesmonul, iar ansamblul cililor reuniţi prin acelaşi cinetodesmon se numeşte *cinetie*.

Structura flagelilor. Flagelii fac adesea parte dintr-un aparat complet de mişcare sau cinetidul. În general, flagelul este un filament unic şi voluminos. Extremitatea sa liberă este efilată sau se poate rezolva într-un buchet de cili; extremitatea opusă se ataşează la un corpuscul bazal numit *blefaroplast* (fig. 49).

În momentul diviziunii celulare, corpusculul bazal nu se reproduce prin bipartiţie. În cazul trypanosomei s-a observat că la o oarecare distanţă de blefaroplast apare în citoplasmă un manşon foarte scurt limitat de 9 perechi de fibrile, paralele cu axul manşonului. Este vorba de noul blefaroplast

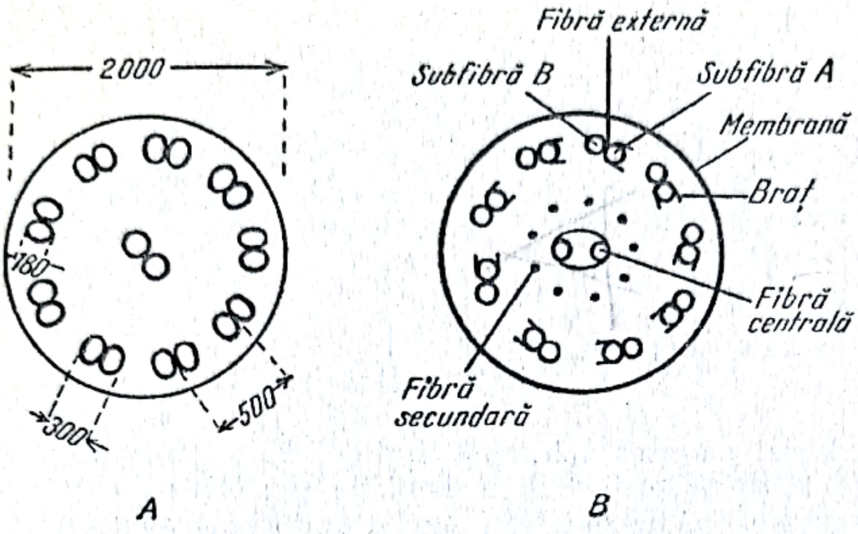


Fig. 50. Dispoziția fibrilelor de la nivelul unui cil și dimensiunile aproximative în Å (după Fawcett și Porter); B — setul de fibre interpuse între fibrele centrale și periferice (după Gibbson și Grimstone).

de la care va porni un flagel ce va împinge citoplasma înapoia lui. Se poate deduce că vechiul blefaroplast a servit numai de model pentru cel nou.

Ultrastructura cililor și a flagelilor. Studiul la microscopul electronic a permis cunoașterea infrastructurii flagelilor și a cililor vibratili. La suprafață, cilul este acoperit de o membrană ce are o structură tristratificată clasică, groasă de circa 90 Å. Această membrană se continuă direct cu membrana plasmatică a celulei, formînd adeseori la rădăcina cilului o înfundătură inelară. La nivelul tulpinei cililor și a flagelilor, citoplasma conține un complex de filamente sau fibrile orientate longitudinal, cu diametrul de circa 200 Å, din care 2 sînt localizate în centrul cilului, iar 9 perechi spre periferia lui (fig. 50).

Cu tehnici speciale de colorare au fost descrise unele detalii în plus, ca proiecțiile radiare sau „brațe" pentru fiecare pereche de fibre periferice. Brațele sînt implantate în una din fibrele perechi (subfibra A). Pe secțiunile transversale, una din „subfibrilele" fiecărui dublet periferic are de obicei două sau trei „codițe", cu o grosime de aproximativ 50 Å și o lungime de circa 120 Å. La majoritatea speciilor, toate codițele sînt dispuse într-o singură direcție, în sensul acelor de ceasornic. Secțiunile transversale au arătat că de fapt codițele reprezintă secțiunile unor creste ce au o lungime de aproximativ 150 Å, creste ce apar pe suprafața laterală a subfibrilei. În plus, de-a lungul subfibrilei, aceste creste prezintă o periodicitate ce se repetă după fiecare 130 Å.

Aranjamentul filamentelor tubulare sub forma unei perechi centrale și 9 perechi periferice este comun tuturor cililor și flagelilor mobili, cu excepția flagelilor bacterieni care sînt mai simpli.

Ultrastructura descrisă mai sus a cililor, care are la bază prezența a 9+2 fibrile longitudinale, se poate supraetaja prin elemente suplimentare în cazul creșterii puterii și complexității contracțiilor, sau dimpotrivă să se reducă

Scanned with OKEN Scanner

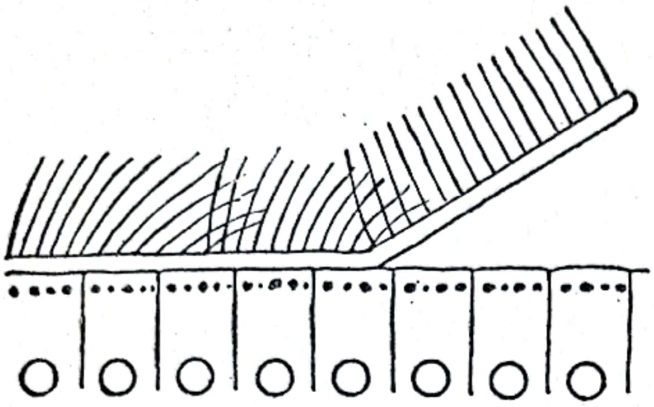


Fig. 51. Raporturile între mişcările ciliare şi citoplasma subiacentă (după Obré, Campan şi Chanton).

într-o măsură mai mare sau mai mică, cînd cilii îşi pierd motilitatea. În primul caz se situează spermatozii multor mamifere şi cîtorva nevertebrate, a căror flageli pot avea o a doua serie concentrică din 9 fibrile longitudinale sau cordoane groase neregulate, formula seriei fibrilare devenind 9+9+2. În al doilea caz, reducerea priveşte în general, filamentele centrale. Astfel, în prelungirile fotoreceptoare ce se dezvoltă din cilii embrionari — bastonaşele şi conurile retinei — se păstrează permanent 9 fibrile perechi exterioare, iar filamentele centrale lipsesc. În general, se consideră că varianta 9+0 este asociată cu căpătarea unei funcţii receptoare sau de conducere a fibrilelor, în detrimentul celei motorii.

Mecanismele mişcării ciliare. Analiza mişcării ciliare a fost uşurată prin folosirea metodei de microcinematografiere. Urmărind mişcările cililor unor celule libere (protozoare ciliate) sau a unor celule epiteliale (trahee, filamentele braheale ale midiei), se pot remarca două tipuri de contracţie:

— contracţia *metacronală,* în planul direcţiei de mişcare;

— contracţia *izocronală,* în plan perpendicular pe direcţia mişcării. Toţi cilii se găsesc în aceeaşi fază de contracţie pentru un anumit tip dat. *Viteza* deplasării unei unde este de o jumătate de mm/s, iar *ritmul* este de 10—16 unde/s.

Mişcările ciliare pot fi pendulare, unciforme, infundiliforme sau ondulante. *În mişcarea pendulară,* tipică pentru protozoarele ciliate, cilul este rigid, iar mişcarea este executată prin flexiunea bazei sale. În cazul *mişcării unciforme,* tipică pentru metazoare, cilul descrie o mişcare de croşet. În *mişcarea infundibulară,* cilul sau flagelul se rotează, trecînd prin trei planuri perpendiculare descriind o formă conică sau de pîlnie. În *mişcarea ondulantă,* caracteristică pentru flagelate, valurile de contracţie înaintează de la locul de implantare spre marginea sa liberă.

Prin mişcrea lor, cilii determină mişcările de progresie (protozoare ciliate) sau deplasarea particulelor depozitate pe celulă (epiteliul traheei).

Granulele bazale sînt centrii motori ai mişcării ciliare; cilii separaţi de granulele lor bazale nu se mai pot mişca. Dacă se taie un şir de cili, valurile de contracţie a celor două piese izolate devin neconcordante (fig. 51).

S-a constatat că cilii şi flagelii sînt dotaţi cu numeroase tactisme: fototactismul, chimiotactismul şi galvanotactismul.

Scanned with OKEN Scanner

Analiza biochimică a fracţiunilor de cili şi flageli izolate din omogenatele diferitelor celule a semnalat prezenţa unei proteine asemănătoare cu miozina, ce posedă o activitate ATP-azică. Mai mult, în mod asemănător ca şi la muşchi, mişcarea unui flagelat este în mod specific inhibată de către inhibitorii tiolici, care blochează grupările SH prezente în flagel. Toate acestea dovedesc asemănărea bazei chimice a funcţiunii motorii a cililor, flagelilor şi miofibrilelor. Activitatea ATP-azică este localizată în cele 9 fibrile perechi periferice. Acest lucru indică localizarea selectivă în aceste fibrile a „miozinei" cililor şi flagelilor.

MIOFIBRILELE

La metazoare, capacitatea de mişcare (numită în acest caz mişcarea musculară sau muscularitate) devine o funcţie specializată datorită unor celule puternic diferenţiate, celulele musculare. Muscularitatea, din punct de vedere filogenetic, derivă dintr-o calitate a materiei vii — contractilitatea.

În cadrul histologiei generale vom studia mai detaliat elementele musculare care la om le întîlnim grupate în ţesuturi şi organe. La baza structurilor ce vor fi descrise o dată cu ţesutul muscular stau nişte formaţiuni filamentoase care se diferenţiază în sarcoplasmă şi sînt denumite miofibrile. Aceste miofibrile. reprezintă efectul contractilităţii ce se specializează încetul cu încetul în cursul dezvoltării filogeneticei. Examinate la microscopul electronic, ele apar formate din structuri foarte fine — miofilamentele. Substratul molecular al miofilamentelor este reprezentat de proteinele contractile: miozina, actina şi tropomiozina.

CICLOZA

Cicloza descoperită în 1774 de către C o s t i, nu reprezintă altceva decît mişcările interne ale celulei, mişcări vizibile prin antrenarea granulelor incluse în citoplasmă. Această mişcare este foarte lentă la nivelul celulelor animale si nu poate fi surprinsă decît cu ajutorul metodei de microcinematigrafiere. Totuşi, cicloza poate fi mai uşor observată în celulele vegetale sub forma unor curenţi continui, care deplasează cloroplastele şi alte granule citoplasmatice. Tipul de mişcare internă sau intracelulară îi aparţine şi *diviziunea mitotică* cu deplasarea centrului celular, a cromozomilor cît şi a celorlalte organite celulare.

Viteza ciclozei variază cu specia, dar în general este scăzută: 3 mm/min la mucegaiul rizopus, 0,015 mm/min la valisneria (plantă verde acvatică). Se semnalează variaţii ale vitezei ciclozei şi în raport cu vîrsta. În celulele foarte tinere, mişcările sînt extrem de lente; apariţia primelor vacuole accelerează cicloza, ce va avea o valoare aproape constantă de-a lungul întregii vieţi celulare. În celula îmbătrînită, citoplasma este aproape imobilă.

Scanned with OKEN Scanner

Cicloza este *influenţată* de o serie de agenţi externi: lumina, temperatura, agenţi chimici. Temperatura foarte scăzută sau foarte ridicată duce la scăderea mişcării interne, cea optimă realizînd o viteză maximă. Cloroformul şi eterul suspendă cicloza, în timp ce substanţele care diminuă viscozitatea citoplasmei o stimulează aproape întotdeauna. Variaţiile de pH şi concentraţia diverşilor ioni pot de asemenea modifica curgerea citoplasmatică, care nu este influenţată de lipsa de oxigen.

MIŞCAREA AMIBOIDALA

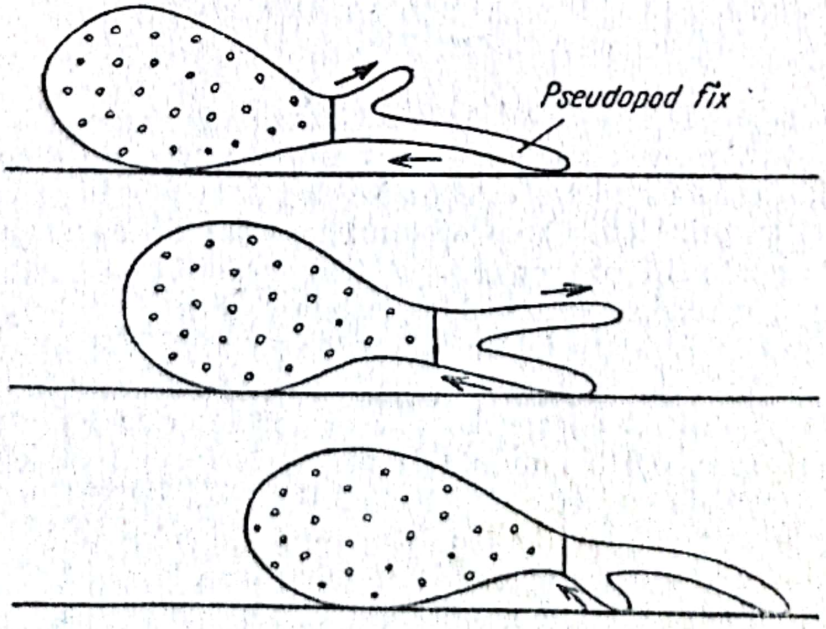
Amiboismul este facultatea celulei de a emite expansiuni citoplasmatice temporare numite pseudopode, ce deformează celula şi care sînt necesare în mişcare şi în ingerarea alimentelor.

Această mişcare, observată pentru prima oară la amibe, a putut fi urmărită şi la alte tipuri de celule (de exemplu, leucocitele vertebratelor).

Mişcarea amibiodală în forma ei cea mai simplă este o scurgere axială de citoplasmă care în mod continuu deplasează corpul celular. Expansiunile citoplasmatice, pot fi predominent monopodice sau pseudopodice, altele pot fi temporar sau permanent polipodice. Pseudopodele pot avea forme variate de: lobi, cordoane, filamente mai mult sau mai puţin fine, după specia considerată.

Mişcarea amiboidală se prezintă sub *aspecte variate* şi implică aderarea celulei de un suport.

Fig. 52. Mişcarea amiboidă prin tracţiune. Pseudopodul fix se contractă trimiţînd către celulă un curent ce pătrunde în pseudopodul liber provocînd alungirea lui.



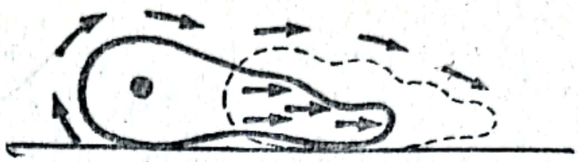


Fig. 53. Mişcarea realizată prin rostogolire.

Mişcarea amiboidiană realizată prin tracţiune. În acest mod de mişcare, amiba emite de obicei un pseudopod, a cărei extremitate aderă de suport, urmînd ca prin contracţia lui întregul corp celula să fie tras înainte. Deplasarea o dată realizată, desfiinţează pseudopodul, urmînd emiterea altuia ce repetă acţiune (figura 52).

Mişcare amiboidiană realizată prin rostogolire. În mişcarea de rostogolire, celula aderă prin faţa sa inferioară de un suport şi înaintează prin rostogolire de maniera unei şenile de tractor (fig. 53). Ea se întîlneşte la organisme uni- şi pluricelulare.

Viteza amiboidismului. Viteza de progresiune variază la diverse amibe de la 0,5—4,6 microni/sec., la leucocitele neutrofile fiind de aproximativ 0,58 microni. Ea este direct influenţată de temperatură şi anumiţi factori de mediu. Un aport insuficient de oxigen are drept rezultat încetinirea amiboidismului. Calciul este necesar pentru acest tip de locomoţie, în timp ce potasiul are o acţiune antagonistă lui.

Rolul mişcării amiboidiene. Mişcările amiboidiene sînt influenţate de diverşi factori. Aşa, de exemplu, lumina atrage myxomicetele (fototactism pozitiv), temperatura putînd să le atragă sau să le respingă (termotactism pozitiv şi negativ), iar globulele albe sînt atrase de secreţiile microbiene (chimiotactism pozitiv).

MITOCONDRIILE

Mitocondriile sînt organite citoplasmatice ubicuitare, care furnizează unul dintre cele mai frumoase exemple de interdependenţă, între structură şi funcţie la nivelul organizării celulare. Structurilor le corespund în aceste organite anume organizări biochimice şi anumite funcţii.

În fiecare celulă, oricare ar fi forma, structura şi funcţia ei în celulele plantelor superioare, la protozoare şi algee, la unele specii bacteriene şi în general în totalitatea celulelor animale cu excepţia eritrocitelor mature, mitocondriile sînt prezente.

Structura generală. La microscopul fotonic mitocondriile sînt organite de *formă* corpusculară care de regulă se prezintă sub trei aspecte: *granule* (mitocondria propriu-zisă), *filamente* (condrioconţi) şi *şiruri de granule* (condriomite). Se consideră că aceste aspecte se pot transforma unele în celelalte; filamentele se pot fragmenta pentru a da naştere şirurilor de granule şi acestea se dezagregă în granule libere. La rîndul lor, granulele pot fuziona pentru a constitui un filament. Alături de granule şi filamente care sînt formele obişnuite,

Biblioteca municipală
Tîrgu-Mureş

Scanned with OKEN Scanner

se pot întîlni şi un număr destul de mare de forme complexe, ca: reţele, inele, aspect de măciucă, rachetă, forma literei V sau Y. În general, forma mitocondriilor este caracteristică pentru fiecare organ sau ţesut şi este omogenă într-o celulă, aflată într o anumită fază funcţională. Majoritatea mitocondriilor din celulele foliculare din tiroidă sînt curbate, în fibra musculară cardiacă ramificată, iar în enterocite ele sînt de obicei filamentoase. Este de remarcat forma alungită a mitocondriei hepatice. Mitocondriile suferă totuşi unele modificări de formă, în raport cu starea funcţională, cu condiţiile mediului ambiant (schimbări în concentraţia ionilor de hidrogen, activitatea funcţională), dar mai ales în raport cu echilibrul osmotic. Variabilitatea formei mitocondriei este o caracteristică generală a acestor organite pusă sub influenţa condiţiilor de mediu. Aceste organite se colorează cu metoda Altman în roşu (pentru prima oară au fost văzute de Altman în 1890 care a observat în citoplasmă nişte granule pe care le-a denumit bioblaşti). Coloraţia supravitală cu verde Janus B este considerată specifică. Mitocondriile au mai putut fi studiate la microscopul fotonic cu metoda de coloraţie cu hematoxilină ferică (Heidenhein) care colorează mitocondriile în negru.

La microscopul de contrast de faze, pe celulele vii, mitocondriile apar sub forma unor granule negre, de aspectul unor alice de plumb.

Dimensiunea mitocondriilor este aproape de limita vizibilităţii microscopiei fotonice şi este constantă, pentru un anumit tip de celulă. Afară de cîteva excepţii diametrul lor este de ordinul micronilor (în medie între 0,3 microni şi 2 microni). Mitocondriile din ovocitele de *Rana pipiens* ating dimensiuni gigante de 20—40 microni, cele din celulele epiteliale ale pancreasului exocrin de 10—12 microni, iar mitocondriile hepatocitului au lungime cuprinsă între 0,5 pînă la 3 microni. Gradul diferenţierii celulare, tipul de ţesut şi funcţia celulei produc modificări sensibile în *numărul mitocondriilor*. Ele sînt numeroase în cele mai multe celule parenchimatoase. Un gram de ţesut hepatic are $8{,}7 \times 10^{10}$ granule mitocondriale, iar fiecare hepatocit conţine în medie 1—4 mii de granule. Procesele metabolice intense determină şi ele variaţii în numărul mitocondriilor, în raport cu căile metabolice (aerobe şi anaerobe) prin care celula îşi procură energia necesară proceselor metabolice. Astfel, în ţesutul muscular striat roşu, în care predomină calea aerobă de degradare a moleculelor organice, numărul mitocondriilor este mai mare decît în ţesutul muscular striat alb, care utilizează de preferinţă calea anaerobă. De asemenea, 40% din volumul fibrei musculare cardiace este ocupat de mitocondrie. În celula spermatică, celulele conjunctive, celulele adipoase, trombocite, limfocite, numărul mitocondriilor este relativ redus.

Topografia intracelulară a mitocondriei este dictată de necesităţile energetice din acele regiuni specializate ale celulei şi de orientare a macromoleculelor proteice structurale ale hialoplasmei. Astfel, în ţesutul muscular striat din limba de şoarece secţionat longitudinal se pun în evidenţă mitocondrii mici, aşezate de o parte şi de alta a benzii Z, şi mitocondrii mari, dispuse în pachete, fără nici o relaţie precisă cu periodicitatea miofibrilelor. Mitocondriile din celulele epiteliale renale sînt plasate în citoplasma bazală, printre pliurile

membranei plasmatice, după direcţia transportului activ. În leucocite este caracteristică dispoziţia radiară a mitocondriei faţă de centrul celulei. Dispoziţii sau orientări speciale pot apărea şi în spermatocitele de prim ordin mai multe mamifere, la care mitocondriile sînt aşezate într-o poziţie polară juxtanucleară. De asemenea, în celulele hepatice de la amfibii se observă o orientare a mitocondriilor în lungul axului, între capilarele sanguine şi canaliculii biliari.

În concluzie deci, mitocondriile tind să se aglomereze oriunde activitatea celulară este mai intensă.

Mitocondriile prezintă şi unele proprietăţi biologice speciale, cum este *sensibilitatea la căldură*. Temperaturi înalte de 40—50° pot determina dezintegrări ale aspectului morfologic normal. Eliberarea lipidelor mitocondriale, cu ajutorul căldurii, poate fi însoţită de o dezorganizarea a sistemelor enzimatice, ce duce la afectări ireversibile.

În citoplasmă, mitocondriile se află în continuă mişcare. În general se disting mişcări de transpoziţie a mitocondriei dintr-o parte a celulei în alta, determinate probabil de variaţiile din încărcături electrice, dintre mitocondrie şi celelalte citomembrane, sau de curenţii citoplasmatici. Se pot întîlni de asemenea şi mişcări de răsucire a mitocondriilor pe loc. De acest din urmă fel sînt şi mişcările rapide de scuturare spre nucleu, observate la mitocondrii, de obicei în perioada în care materialul nucleolar, în mod aparent, migrează spre citoplasmă.

ULTRASTRUCTURA MITOCONDRIEI

Datorită dimensiunilor lor, structura mitocondriilor nu poate fi studiată la microscopul fotonic decît prin caracterele morfologice generale (prezentate în paragraful precedent) şi prin colorabilitatea lor.

Organizarea internă a mitocondriilor a putut fi studiată la microscopul electronic. Primele observaţii de microscopie electronică indică faptul că mitocondria are un grad considerabil de organizare submicroscopică. S-a stabilit că mitocondriile au un înveliş dublu, format dintr-o *membrană externă* şi o *membrană internă*. Aceasta din urmă prezintă falduri numite *criste*, ce se proiectează înăuntru sau de-a lungul mitocondriei. Membranele delimitează două compartimente distincte: *un compartiment extern*, cuprins între cele două membrane şi care se continuă cu miezul cristelor; un *compartiment intern*, sau *matricea mitocondrială*, delimitat de membrana internă. Atît membrana externă cît şi membrana internă au o grosime ce oscilează între 35 şi 60 Å. Compartimentul extern este larg, de aproximativ 40—70 Å. Spaţiul dintre cristele membranelor interne măsoară de asemenea 40—70 Å. În figura 54 este reprezentată schematic infrastructura mitocondriei.

Scanned with OKEN Scanner

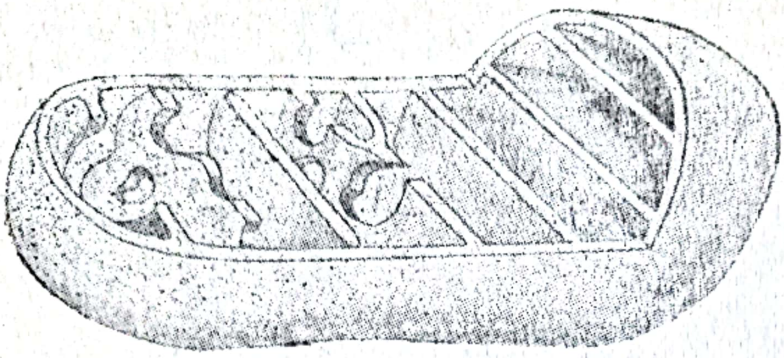
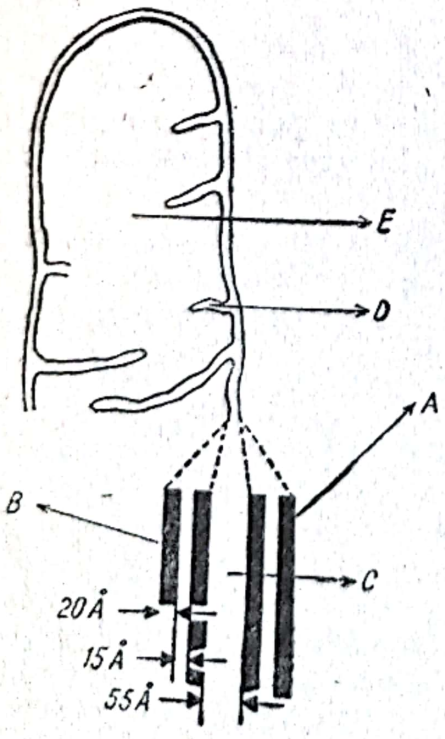


Fig. 54. Model de mitocondrie.

Membranele mitocondriale sînt de tip simetric şi prezintă o structură fină, comparabilă cu o membrană de tip „unit" descrisă de Robertson. Ele sînt alcătuite dintr-un strat mijlociu, mai puţin dens la fluxul de electronic — foiţa centrală groasă de 20—23 Å —, flancat de o parte şi de alta de către un strat dens la fluxul de electroni. Cele două foiţe exterioare au o grosime de 15—17 Å

Cu toate că membranele (externă şi internă) se aseamănă mult din punctul de vedere al structurii lor generale, ele prezintă totuşi unele deosebiri care trebuie remarcate. Astfel, dacă membrana limitantă externă este netedă în toate mitocondriile, cu o formă relativ stabilă şi foarte permeabilă, membrana limitantă internă are o dispoziţie mai labilă, variabilă la acelaşi tip de celulă şi la tipuri diferite de celule şi prezintă o permeabilitate redusă. Observaţii recente sugerează şi unele abateri de la structura generală obişnuită descrisă mai sus. Astfel, uneori, cele două membrane mitocondriale ale celulelor epiteliale din pancreasul exocrin se alipesc între ele — compartimentul extern este şters, iar în locul celor două membrane trilaminate nu se mai observă decît o singură structură pentalaminată. La celulele hepatice şi renale de la hamsteri în vîrstă de o zi, membrana limitantă externă şi cea internă se încrucişează (fig. 56 A). Totodată există indicaţii că în unele celule membrana limitantă externă nu este continuă, ci se invaginează şi ea în matrice, pentru a forma criste (fig. 56 B). Cea mai mare parte dintre variaţiile individuale menţionate trebuie considerate simple abateri de la normal.

Fig. 55. Aspectul mitocondriei la microscopul electronic:
A — membrana externă; B — membrana internă; C — compartiment extern; D — criste; E — matrice.



Cristele mitocondriale. După cum s-a spus, membrana mitocondrială internă formează în unele regiuni ale sale invaginări care au fost

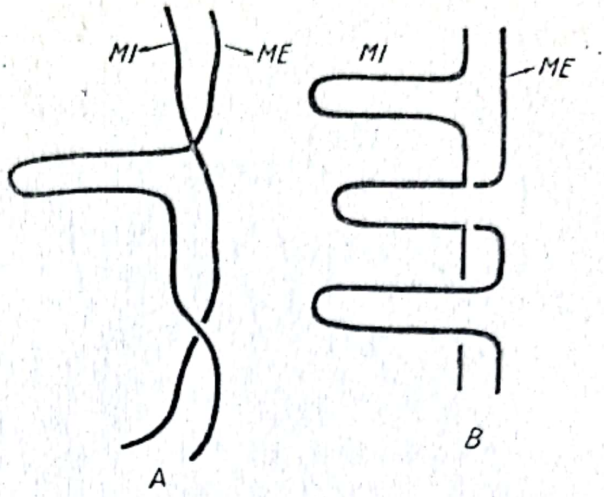


Fig. 56. Relaţia între membrana externă şi internă a mitocondriei:
A — membrana externă şi membrana internă se încrucişează; ME — membrana extern; MI — membrana internă; B — membrana externă se invaginează şi formează criste; ME — membrana externă; MI — membrana internă.

denumite criste. Aşadar, cristele sînt structuri compuse din două membrane (prelungiri ale membranei interne) care delimitează în axul lor o prelungire a compartimentului extern (fig. 57).

Este semnificativ faptul că, *numărul* cristelor variază considerabil de la un tip de mitocondrie la altul şi este de menţionat că există o strînsă corelaţie între numărul cristelor şi activitatea metabolică generală a ţesutului respectiv. În muşchi aripioarelor de la insecte şi în ţesutul muscular cardiac de la mamifere numărul cristelor este considerabil crescut; cristele sînt strînse în pachete, paralele între ele şi cu o matrice diluată. În schimb, în ţesutul muscular neted mitocondriile sînt reduse ca număr şi cu criste dispuse dezordonat. O menţiune specială trebuie făcută pentru helminţi (fasciola hepatică), unde în mod frecvent mitocondriile au numai o cristă, ce se întinde longitudinal. Această situaţie demonstrează că aceşti paraziţi utilizează în principal energie procurată pe cale anaerobă şi nu cea procurată prin activitatea mitocondriilor.

Forma cristelor mitocondriale variază mult de la un tip de celulă la altul. Din acest punct de vedere cristele pot fi clasificate în: *criste septale*, criste *tubulare* sau criste viloase şi criste *veziculare* sau *saculare*. Cristele septale formează despărţituri mai mult sau mai puţin complete. Este de precizat că se pot întîlni şi alte variaţii ale cristelor, în sensul că ele se pot ramifica, bifurca, încrucişa, formînd modele de fagure sau reţea. Astfel de aspecte se observă la mitocondria din leucocitele umane, spermatidele scorpionului şi axonii homarului.

La muşchiul tiroidian şi pancreasul de liliac, în celulele din mucoasa gastrică şi sistemul nervos de la lipitoare, în ficatul de salamandră se întîlnesc unele modificări ale cristelor, denumite *angulări*. La aceste criste, una din cele două membrane de tip „unit" formează pe o porţiune de pe traiectul său un unghi de 90°, faţă de membrana de tip „unit" opusă. Cea de-a doua membrană îşi menţine traiectul rectiliniu şi neondulat, sau se curbează puţin realizînd o convexitate spre angulaţie. Dat fiind faptul că de-a lungul aceloraşi criste pot apărea alternanţe în angulare, crista poate prezenta un aspect în zig-zag. Ar fi de notat că la celulele glandei interstiţiale a testiculului, membrana internă a mitocondriei proiectează în matrice numai vili scurţi. Mai

Scanned with OKEN Scanner

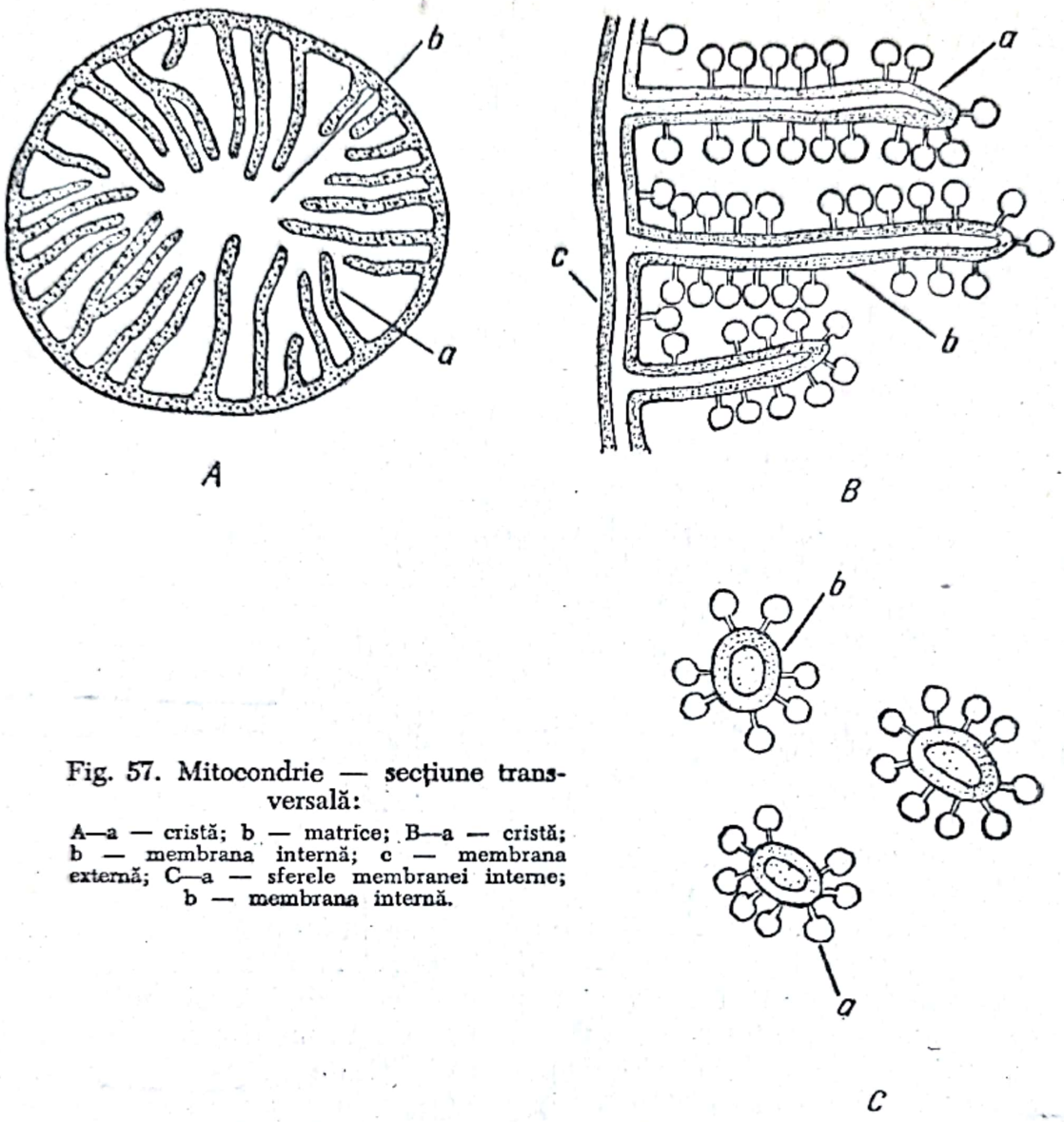


Fig. 57. Mitocondrie — secţiune transversală:
A—a — cristă; b — matrice; B—a — cristă; b — membrana internă; c — membrana externă; C—a — sferele membranei interne; b — membrana internă.

mult încă, la corticosuprarenala de la mamifere şi alte celule ce secretă steroizi, în celulele endoteliului pulmonar, la cele mai multe protozoare, în celulele cu margine în perie din rinichi, celulele hepatice, şi la neuroni membrana internă înaintează în matrice formînd tubuli — *criste de tip tubular*. Din cauza aspectului lor pe secţiune, aceste criste mai sînt denumite şi viloase. *Matricea* sau compartimentul intern al mitocondriei are o densitate ce variază la fluxul de electroni, de la un tip de celulă la altul. De obicei, densitatea electronică a matricei este invers proporţională cu numărul cristelor. În interiorul matricei se pot distinge granule şi filamente. Densitatea la fluxul de electroni, precum şi prezenţa granulelor şi a filamentelor sugerează că matricea este vîscoasă şi semifluidă.

Granulele matricei au în medie un diametru între 50 şi 300 Å. Numărul lor în mitocondrie este variabil. Granulele sînt absente la unele mitocondrii de la protozoare, şi celule tiroidiene, în timp ce în ficat, pancreas, duoden,

epiteliu bronşic, mieloblaşti şi leucocite, sînt în număr relativ crescut. Constituenţii majori ai granulelor sînt reprezentaţi de ioni bivalenţi de calciu şi de magneziu, precum şi de ioni bicarbonaţi şi fosfaţi.

ORGANIZAREA MOLECULARĂ A MITOCONDRIEI

Cercetările privind organizarea moleculară a părţilor componente ale mitocondriei au făcut mari progrese în ultimii ani, datorită utilizării microscoapelor electronice de foarte mare putere de rezoluţie (400 000—2 milioane putere măritoare), ca urmare a aplicării metodei de coloraţie negativă şi a perfecţionării metodelor de ultracentrifugare şi microanaliză chimică.

Organizarea moleculară a membranelor şi cristelor. O dată cu demonstrarea structurii membranelor mitocondriale şi ca rezultat al combinării studiilor biochimice cu cele de microscopie electronică, Kingenberg şi Pfaff au prezentat un model privind localizarea unor componenţi mitocondriali (fig. 58).

Examinarea *compoziţiei chimice* a membranei este esenţială pentru înţelegerea corectă a organizării moleculare. Trăsătura cea mai importantă a membranei din acest punct de vedere este conţinutul bogat în *lipide*. Compoziţia în lipide a membranei mitocondriale este de 40% şi conţine o mare proporţie de fosfatide, reprezentate în cea mai mare parte de fosfatidil-colină şi fosfatidil-etanolamină. Din totalul lipidelor 0,7% îl formează fosfatidil-serina şi unii constituenţi inozitol-lipidici. O cantitate mică de colesterol, sub formă neesterificată, este de asemenea prezentă. Un mare procent (68%) din acizii graşi ai membranei mitocondriale sînt acizi graşi nesaturaţi. Green şi Fleischer au demonstrat importanţa fundamentală a lipidelor şi în mod

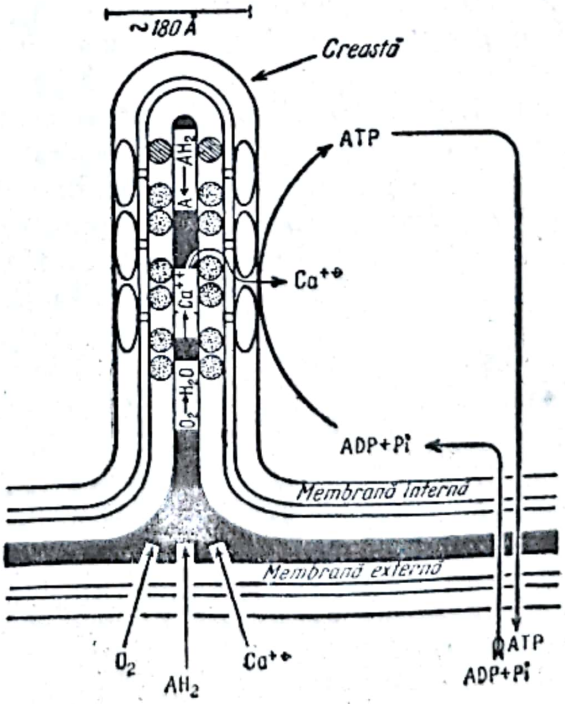


Fig. 58. Model schematic al cristei mitocondriale.

particular a fosfolipidelor, în menţinerea integrităţii membranelor şi în menţinerea integrităţii sistemelor de transfer de electroni, care sînt localizate la nivelul acestor membrane. În acest sens s-a dovedit că enzimele respiratorii formează complexe cu fosfolipidele. Este deci posibil ca lipidele complexe să joace un rol important în menţinerea relaţiei spaţiale a acestor enzime.

Un alt factor important necesar menţinerii structurii membranei este legat de prezenţa *proteinelor insolubile*. Existenţa unor proteine insolubile, responsabilă de menţinerea structurii mitocondriei, a fost confirmată de izolarea proteinei structurale a mitocondriei de către Criddle (1962). Proteina structurală constituie 50—70% din totalul proteinei mitocondriale; ea ar putea forma baza structurii membranei mitocondriale. Această proteină are o marcată capacitate de combinare cu fosfolipidele la pH neutru şi sînt capabile să formeze complexe cu enzimele respiratorii specifice. Drept rezultat al acestei proprietăţi s-a sugerat ideea că proteina structurală are rol primar în legarea enzimelor mitocondriale. Proteina structurală este în relaţie cu proteina catalitică care corespunde proteinelor oxido-reductoare prezente în complexele lanţului de transfer de electroni. Cînd proteina structurală este solicitată, proteina catalitică rămîne neschimbată în formă şi dimensiune.

Una din cele mai pasionante probleme ale biologiei moleculare mitocondriale este cunoaşterea *relaţiilor dintre activitatea enzimelor mitocondriale şi structurilor membranoase*. Astfel spus se ridică problema dacă activitatea *enzimelor* mitocondriale este condiţionată de complexitatea ultrastructurii membranelor şi în ce fel sînt înlănţuite complexele enzimoproteice în aceste ultrastructuri membranoase. În adevăr, mitocondriile conţin enzimele terminale ale lanţului respirator formulate de L e h n i n g e r din 1965. Studiile ulterioare au localizat un număr considerabil de diferite enzime şi compuşi în membrana mitocondriei, dintre care se pot specifica: flavoproteine, citocromi b, c şi c_1, citocromi a şi a_3, coenzima Q, DPNH-citocrom C-reductaza. Metodele moderne de fracţionare au permis stabilirea faptului că citocromoxidaza poate fi considerată drept marker enzimatic pentru mitocondrii. Se poate presupune că sistemul lanţului respirator, împreună cu alte proteine, ar putea forma coloana structurilor membranei mitocondriale. Se admite în plus că, la enzimele componente ale lanţului respirator, se adaugă şi enzime respiratorii numite auxiliare, enzime de tipul NAD — transhidrogenazele, acyl CoA dehidrogenaza şi alte tipuri diferite de enzime. Chiar şi factorii implicaţi în procesul de fosforilare oxidativă s-ar putea să fie asociaţi la aceste ansambluri respiratorii şi în consecinţă deci la membrana mitocondrială.

Prin aplicarea tehnicii de coloraţie negativă şi prin observaţiile efectuate, cu ajutorul microscopului electronic cu putere mare de rezoluţie s-a dovedit că membranele şi cristele mitocondriale sînt alcătuite din înlănţuirea unor particule de o remarcabilă asemănare, care au primit numele de *particule elementare* sau sferele membranei interne. Descrise de F e r n a n d e z-M o r a n din 1960, sub formă de particule uniform rotunde sau poliedrice, particulele elementare au fost considerate *subunităţi structurale de bază ale membranei mitocondriale*. Particulele elementare sînt alcătuite dintr-o *piesă bazală* de 40 Å grosime şi 100 Å lungime, continuată cu un cilindru sau tijă gros de

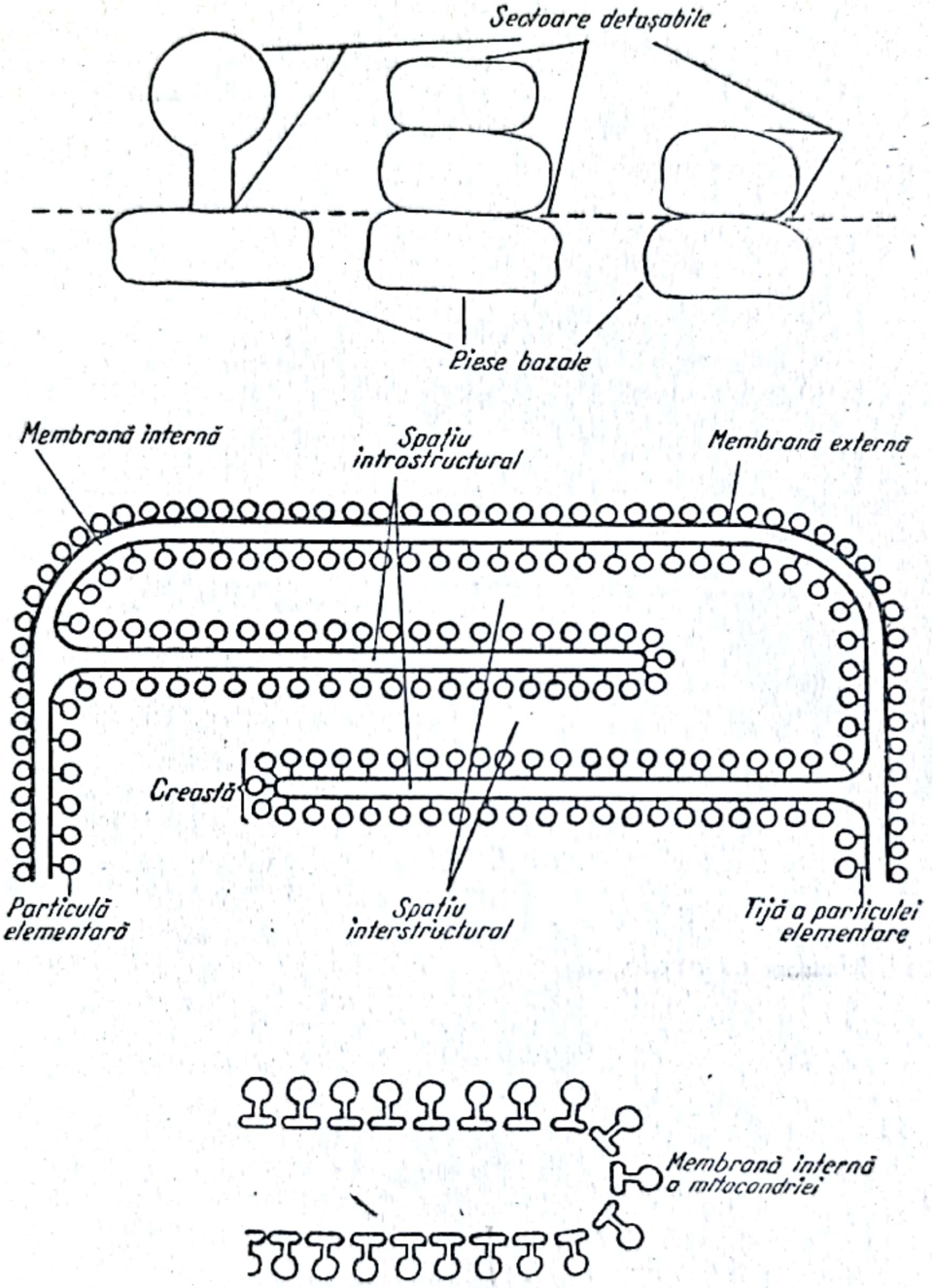


Fig. 59. Schema particulelor elementare la diferite puteri măritoare.

40 Å şi înalt de 50 Å, care se termină la celălalt capăt cu o *porţiune globulară*, cu un diametru de 40—100 Å.

Modelul schematic din figura 59 dă cu aproximaţie cîteva date asupra cunoaşterii cristelor şi particulelor elementare. Toate particulele elementare care se repetă de-a lungul membranelor au aceeaşi formă şi dimensiune, dar nu sînt toate din punct de vedere chimic identice. Este fixată ideea că ansamblul

lanţului respirator este din punct de vedere structural indentic cu subunitatea. De aici, denumirea lor de *subunităţi fundamentale ale sistemului de transfer de electroni*. Fiecare subunitate ar corespunde unui lanţ respirator complet. Se precizează că într-o mitocondrie se întîlnesc atîtea subunităţi cîte lanţuri respiratorii are mitocondria respectivă. Aşa, de exemplu, se crede că mitocondria hepatică are 15 000 subunităţi, mitocondria ţesutului muscular cardiac 40 000—50 000 subunităţi, iar fibrele musculare de la insecte ar avea 100 000 subunităţi. Green şi Oda apreciază că la nivelul unei singure criste există aproximativ 300 unităţi de ansambluri respiratori. În concordanţă cu aceste observaţii, cercetări recente au pus în evidenţă în subunitate patru complexe enzimatice legate de lanţul respirator: NADH-coenzima Q-reductaza, acid succinic-coenzima Q-reductaza, coenzima Q-citocrom C reductaza şi citocromoxidaza. Procesul de organizare a complexelor enzimatice duce la repartizarea lor într-un anumit loc din subunitate, şi anume: NADH- şi acid succinic coenzima Q-reductaza în piesa bazală, coenzima Q-citocrom C-reductaza la nivelul tijei şi citocrom-oxidaza în porţiunea globulară. Se crede că subunităţile între ele şi părţile componente ale subunităţilor sînt legate prin „proteina structurală", cu mare capacitate de polimerizare. Greutatea moleculară a unei particule elementare este de aproximativ $1{,}4 \times 10^6$. Sub acest raport, greutatea moleculară confirmă că într-o subunitate se află cantonate toate elementele necesare lanţului respirator.

Mai recent s-a arătat că separarea cristelor de particulele elementare demonstrează faptul că sferele sau particulele elementare nu conţin enzimele respiratorii. Se presupune că particulele elementare ar fi identice cu un factor denumit factor de cuplare (F_1) ce ar manifesta o activitate ATP-azică.

Organizarea moleculară a matricei. Tehnicile de microscopie electronică de mare putere măritoare au demonstrat prezenţa la nivelul matricei a unor elemente structurale pînă acum neobservate, de aspect filamentos. Aceste formaţiuni filamentoase din matrice au un diametru de 15—100 Å şi sînt considerate a fi alcătuite din *acid dezoxiribonucleic*. Într-adevăr, 1—2% din totalul acidului dezoxiribonucleic celular se găseşte localizat în matricea mitocondrială. Luck şi Reich, în 1949, prin experienţele devenite clasice la *Neurospora crassa*, au izolat din matricea mitocondriei un acid dezoxiribonucleic diferit de cel din nucleu şi o ADN-polimerază dependentă de acidul dezoxiribonucleic. Chèvremont şi Baeckeland în 1959 observă prezenţa acidului dezoxiribonucleic în mitocondria fibroblaştilor cultivaţi in vitro. În 1963, Nass demonstrează la microscopul electronic incluzii filamentoase în matricea mitocondriei, destructibile după tratare cu dezoxiribonuclează. În 1965, Tewari, Jayaraman şi Mahler au făcut un studiu asupra acidului dezoxiribonucleic din mitocondrie şi au arătat că în constituţia lui sînt prezente 33 de dezoxiribonucleotide. Acidul dezoxiribonucleic din mitocondrie are o lungime de 6,6 microni, ce corespund unei greutăţi moleculare de aproximativ 13×10^6 şi conţine 180 000 de perechi de nucleotide — suficiente pentru a codifica un număr mare de proteine. În 1966, Nass a descris o configuraţie circulară a acidului dezoxiribonucleic, la mitocondria celulelor hepatice de la şobolan, cultivate in vitro. În unele mitocondrii, filamentele de acid dezoxiribonucleic au o structură clar helicoidală, nu se întind la întîmplare

şi ocupă în întregime spaţiul dintre criste. Acidul dezoxiribonucleic poate fi acum considerat un constituent universal al mitocondriei. Deşi s-a observat că masa principală a acidului dezoxiribonucleic apare legată de matrice, ea este foarte frecvent conectată la membrana mitocondrială sau la criste (aspect ce s-ar putea să fie determinat de fixare). Totuşi, relaţia dintre ADN şi membrana mitocondrială este de un real interes, cu atît mai mult cu cît se observă că particulele submitocondriale sînt bogate în ADN. Aceste constatări pledează în favoarea existenţei unei relaţii strînse între membrana mitocondriei şi ADN. Se presupune că ADN controlează secvenţa nucleotizilor dintr-un ARN-mesager cu rol de organizator asupra secvenţelor de aminoacizi dintr-o „proteină organizator" care este specifică pentru membranele mitocondriale. Este interesant de remarcat că acidul ribonucleic se consideră a fi asociat nu numai cu membrana mitocondrială, dar şi cu alte membrane netede. Se susţine chiar că, există un tip special de acid ribonucleic, care ar avea rolul de a controla replicarea membranelor celulare. Ar fi interesant dacă s-ar putea demonstra că membrana mitocondrială are oarecare capacitate de replicare. Studiile recente demonstrează că mitocondria are un grad remarcabil de autonomie pentru biosinteza macromoleculară şi posibil pentru biogeneza lor, care ar rezulta din faptul că ele conţin acid dezoxiribonucleic (capabil de replicare semiconservativă) aminoacyl ARN sintetaza şi ribozomi. Deşi mitocondria se află sub controlul genelor nucleare, nu se exclude posibilitatea existenţei şi a unor factori genetici citoplasmatici. Se sugerează că aceste gene sînt localizate în mitocondrie şi că sînt identice cu ADN mitocondrial. În concluzie deci există în mitocondrie un mecanism genetic, parţial independent de genomul nuclear.

Claude, Schneider, Hogeboom stabilesc pe cale histochimică prezenţa la nivelul matricei mitocondriale a *enzimelor ciclului funcţional al acidului citric* (care oxidează piruvatul) şi intermediarilor ciclului, pînă la CO_2 şi H_2O. Întregul complex enzimatic şi cofactorii necesari ciclului acidului citric sînt prezenţi în matricea mitocondriei. De asemenea, pe cale histochimică a fost localizată în matrice succindehidrogenaza şi sistemul alfa-oxoglutarat dehidrogenaza. În mod special, succindehidrogenaza este considerată drept marker pentru mitocondrie şi prezenţa ei a fost demonstrată în mitocondria unui număr mare de ţesuturi. Este de menţionat că încă din 1956 Schneider şi Hogeboom au arătat că enzimele ciclului acizilor tricarboxilici sînt prezente nu numai în matricea mitocondrială. Ele au mai fost puse în evidenţă şi în structuri extramitocondriale. Natura acestei dualităţi a localizării enzimelor ciclului tricarboxilic este pusă în legătură cu unele speculaţii asupra evoluţiei mitocondriei. După aceste speculaţii mitocondriile ar reprezenta o achiziţie mai recentă în evoluţia celulei şi ele ar fi descendente ale microorganismelor, care iniţial au pătruns ca paraziţi în citoplasmă şi care ulterior au fost integraţi sub forma unui sistem respirator (metabolic) perfecţionat. Interesul deosebit al unei astfel de ipoteze este recent stimulat şi de descoperirea ADN circular în microorganisme, foarte asemănător celui mitocondrial. În concluzie, matricea mitocondriei conţine toate enzimele ciclului acidului citric, dar unele dintre acestea nu sînt prezente exclusiv în structura

Scanned with OKEN Scanner

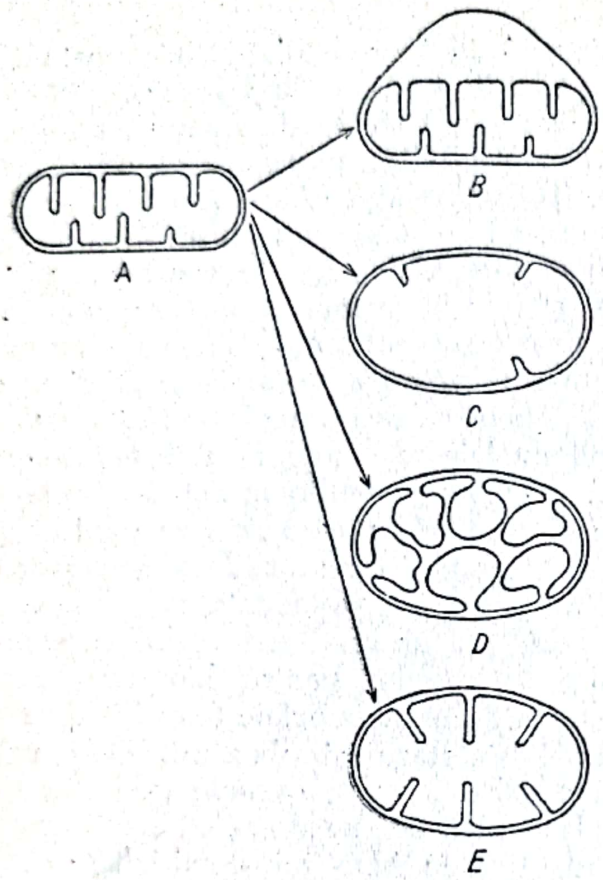


Fig. 60. Modificări morfologice ale mitocondriei:
A — stadiul normal; B, C, D, E — aspecte diferite de umflare a compartimentului extern şi intern.

mitocondriei. Unele observaţii vin să sprijine ipoteza că *adenozin-trifosfataza* ar fi şi ea localizată în matrice. În opoziţie cu aceste, cercetările recente întreprinse de Ohnishi şi Kawamura, precum şi de Takeo şi Watanabe au dus la constatarea că ATP-aza mitocondrială este totuşi strîns legată de funcţia şi structura membranelor mitocondriale. În sfîrşit, s-a demonstrat că în mitocondrii există şi o *dezoxiribonuclează alcalină*. Spre deosebire de dezoxiribonucleaza acidă, enzimă tipic lizozomală, dezoxiribonucleaza alcalină este socotită drept marker mitocondrial, ca şi citocromoxidaza. Rolul dezoxiribonucleazei alcaline poate fi asociat metabolismului ADN mitocondrial.

Umflarea activă şi contracţia mitocondriilor. Alături de complexitatea structurii este de menţionat şi marea plasticitate morfologică a mitocondriei. Două modificări de volume au fost în mod particular studiate: *umflarea cu pătrunderea apei* şi *contracţia cu expulzia apei*, două fenomene strîns legate de procesele de fosforilare oxidativă, demostrînd astfel în plus rapoartele strînse între structura şi funcţia acestor organite (fig. 60). *Umflarea* este cea mai frecventă reacţie a mitocondriei, poate cea mai frecventă reacţie a celulei, la injurii în general. Umflarea determină o retracţie a cristelor, care se proiectează numai ca mici resturi, în interiorul mitocondriei. S-a sugerat că umflarea poate apărea prin desfacerea membranelor sau printr-o alunecare a celor două membrane şi desfăşurarea cristelor. Adesea cristele se dizolvă şi mitocondriile par goale. Cauzele unor astfel de umflări sînt variate. Un fapt este important pentru înţelegerea întregului proces de umflare, că cele mai precoce alteraţii se produc la nivelul cristelor. Cristele se lărgesc, iar acest proces de umflare conduce la desfiinţarea subunităţilor sistemelor de membrană, separînd astfel lanţul respirator de fosforilare. Volumul se poate dubla, tripla şi, în consecinţă, se măreşte spaţiul dintre membrane, creşte spaţiul ocupat de matrice care se diluează şi cristele se transformă chistic. Se descriu două varietăţi de umflare: pasivă şi activă. Umflarea pasivă este în raport cu osmolaritatea mediului ambiant şi este aproape instantanee. Umflarea activă este independentă de osmolaritatea mediului, este sub dependenţa respiraţiei celu-

lare şi este restabilită de acidul adenozintrifosforic. Umflarea activă poate fi indusă de agenţi fiziologici de tipul ionilor fosfaţi, ioni de calciu (care stimulează sinteza unui factor endogen al umflării, numit factor U), ioni de zinc, cupru, argint, magneziu. Mitocondriile sînt capabile de a strînge o varietate de ioni de tipul calciului, magneziului, kaliului şi fosfatului anorganic. Se citează chiar prezenţa unui sistem de balansare ionică, în membrana mitocondriei; pătrunderea unui ion, în mod frecvent, este însoţită de ieşirea celuilalt. Se poate sugera că transportul ionilor de-a lungul membranei mitocondriale este controlat de enzime specifice pentru fiecare tip de ion şi că transportul activ al ionilor este strîns asociat cu sistemul lanţului respirator şi este dependent, de integritatea fizică a membranei, respectiv de ciclul umflare-contracţie. Se consideră că umflarea este rezultatul primordial al acţiunii celor mai mulţi hormoni şi substanţe toxice. Umflarea poate fi determinată şi de alte cauze: iradiere cu raze Röntgen, administrare de dextran sau supradozaj cu tiroxină. Agenţii fiziologici cei mai puternici ai umflării, al căror efect este determinat de stimularea factorului U sînt: diiodotironina, corticosteronul, hidrocortizonul, cisteina, glutationul redus, ocitocina, vazopresina, insulina. Influenţa acestor din urmă factori ar putea fi o indicaţie că umflarea este condiţionată de starea grupelor S-S şi S-H. Investigaţii biochimice au condus la concluzia că, în mod normal, pătrunderea apei în mitocondrie este controlată de procesele energetice şi că fosforilarea oxidativă normală este indispensabilă pentru menţinerea echilibrului structurii mitocondriale. Insuficientul aport de energie determină umflarea cristelor mitocondriale şi aceasta la rîndul său inhibă procesul de fosforilare oxidativă la locul umflării. Factorii energetici ai umflării sînt coenzimele mitocondriale, în cea mai mare parte NAD, coenzimă ce este foarte strîns ataşată la cristele mitocondriale. Umflarea mitocondrială facilitează pierderea coenzimelor. O altă proprietate a mitocondriei este capacitatea sa de a se contracta şi, o dată cu aceasta, de a elimina apa. *Contracţia* şi eliminarea apei se face printr-un mecanism activ care necesită prezenţa acidului adenozin-trifosforic şi nu este o simplă revenire a umflării. Este vorba de un proces activ enzimatic. Pentru o moleculă de acid adenozintrifosforic sînt eliminate din mitocondrie aproximativ 300 de molecule de apă. Mecanismul contractil este localizat pe membrana internă. Trebuie semnalat faptul că mediul intracelular include în concentraţii suficient de crescute, un mare număr de compuşi capabili de a induce ciclul mitocondrial de umflare-contracţie. Concentraţia intracelulară a fosfatului anorganic. ADP, ATP, ioni de calciu, depinde în mod esenţial de procesul de respiraţie şi fosforilare intramitocondrială.

— Alte modificări structurale au fost descrise la mitocondria din epiteliul alveolar din plămîn. Originea acestor modificări este legată de creşterea conţinutului în bioxid de carbon al aerului în respiraţie. Drept rezultat, se produce o umflare a spaţiului dintre cristele mitocondriale cu formarea unor lamele de 200—700 Å Această transformare lamelară este un proces degenerativ, ireversibil care duce la distrugerea membranelor mitocondriale şi eliminarea matricei.

Scanned with OKEN Scanner

— Mitocondriile fibroblaştilor cultivaţi în vitro, după o perioadă mai lungă de cultivare, prezintă criste foarte lungi, ce se întind longitudinal şi pot fuziona în multe puncte. O parte din aceste alteraţii sînt rezultatul unei degenerări a mitocondriei, însoţită de dezmembrarea membranelor externe, ruperea lor şi răspîndirea cristelor în citoplasmă. Este posibil ca mitocondria să se dizolve, în vacuolele aparatului Golgi, şi acestea pot fi interpretate, ca citolizomi bogaţi în fosfatază acidă, dar prezentînd resturi ale structurii lor interne ale mitocondriei.

Originea mitocondriei. Problema mecanismului biogenezei mitocondriei este încă o problemă neclarificată. Este bine cunoscut faptul că dezagregarea mitocondriei este de regulă urmată de moartea întregii celule. Cu toate acestea există şi cazuri de supravieţuire a celulelor şi de regenerare a condriomului. Capacitatea de regenerare a mitocondriei se pare că este remarcabilă.

În legătură cu originea mictocondriei în decursul timpului s-au enunţat două puncte de vedere. În conformitate cu una din aceste concepţii, mitocondriile ar fi capabile să se dividă o dată cu divizarea unei celule în două celule-fiice. Această ipoteză se bazează pe observaţii de microscopie de contrast de fază care au arătat pe celulele vii că mitocondriile se repartizează în celulele-fiice, în timpul mitozei, prin divizarea mitocondriilor preexistente. F r e d e r i c, în 1958, în timpul diviziunii fibroblaştilor în culturi de celule, descrie următoarele faze de înmulţire a mitocondriilor: *o primă fază,* în care numărul mitocondriilor scad, se reduc mişcările lor şi ele se fragmentează. Aceste modificări precedă pe cele din nucleu. În *a doua fază,* celula se divide, iar mitocondriile se repartizează în mod pasiv în celulele-fiice; nu s-a observat niciodată o diviziune transversală sau longitudinală a mitocondriei. În *a treia fază,* ele se refac din elementele constitutive ale citoplasmei celulei. Pe de altă parte, în legătură cu cea de-a doua concepţie, toate elementele celulare au fost privite drept precursori ai mitocondriei: membranele reticulului endoplasmic sau aparatul Golgi, membrana celulară, membrana nucleară. La tripanosome, kinetoplaştii sau kinetonucleii sînt formaţi din combinarea nucleului cu materialul mitocondriei R h o d i n, în 1954, descria prezenţa unor structuri cu criste interne, de formă mai mult sau mai puţin rotundă — microcorpii din ficat observaţi în timpul regenerării după hepatectomie parţială. S-a crezut că aceşti microcorpi ar fi precursori autentici ai mitocondriei. Totuşi, relaţia între microcorpi denşi şi mitocondrie este încă o problemă ce rămîne în suspensie. Originea lor este obscură şi este nesigur încă, dacă mitocondriile aparţin acelor părţi ale celulei, care se reproduc singure prin replicare. În 1961, G r e e n enunţă o ipoteză privind neogeneza mitocondriilor. După acest autor, într-un prim timp, s-ar petrece un proces de polimerizare a unor monomeri ai proteinei structurale, cu lipidele şi componenţii lanţului de transport de electroni, pentru a forma *o unitate a sistemului de transport.* Ar urma apoi formarea unor agregate, prin adăugarea enzimelor auxiliare şi a coenzimelor. În continuare s-ar forma şiruri de unităţi de transport, apoi s-ar constitui membrana externă şi în final s-ar produce sechestrarea enzimelor din spaţiul intercristic la locuri specifice de legătură. Recent, au mai fost adăugate şi alte exemple de mitocondrogeneză. Un exemplu îl oferă evoluţia mitocon-

Scanned with OKEN Scanner

driilor în timpul spermatogenezei la şoarece. Este ştiut că spermatogoniile sînt sărace în mitocondrii, în timp ce spermatocitele de la sfîrşitul perioadei de creştere au o populaţie mitocondrială bogată. În timpul dezvoltării celulare, mitocondriile nu sînt răspîndite la întîmplare, ci sînt organizate în grupe compacte, iar între ele se observă un material difuz de aspectul unui ciment. Pe măsura creşterii progresive a spermatocitelor, numărul mitocondriilor din fiecare grup creşte., într-o astfel de măsură, că grupele dau un aspect de centri de mitocondrogeneză. Materialul cimentat pare să derive din ribozomi. În unele imagini electronooptice s-a putut remarca şi contacte între reticulul endoplasmic şi mitocondriile individuale. Aceste contacte par aşa de intime în unele situaţii încît membranele mitocondriei şi cele ale reticulului endoplasmic nu se mai pot distinge în regiunea de contact. De aici ideea că *reticulul endoplasmic şi ribozomii ar putea să joace un rol important, în furnizarea materialelor necesare, pentru formarea noilor mitocondrii, sub influenţa mitocondriilor preexistente.*

Cunoaşterea mai completă a mecanismului prin care se sintetizează proteinele mitocondriale constituie o direcţie promiţătoare de continuare a cercetărilor şi va deschide perspective mari în cunoaşterea mecanismului mitocondrogenezei.

RAPORTURILE MITOCONDRIEI CU ALTE STRUCTURI CELULARE

În unele celule, mitocondriile au tendinţa să se dispună în vecinătatea nucleului. Se pot realiza în cazuri mai rare contacte strînse între nucleu şi mitocondrie. În cele mai multe celule, mitocondriile vin în contact cu alte părţi din celulă în scopul evident de a furniza energia necesară desfăşurării unor anume procese celulare. Aşa, de exemplu, în celula renală, mitocondriile sînt aşezate în contact strîns cu pliurile bazale ale membranei plasmatice, pentru a furniza energia necesară schimburilor de membrană. De asemenea, prezenţa mitocondriilor în vecinătatea sinapselor nervoase poate fi pusă în legătură cu nevoie de energie pentru trecerea impulsului nervos. Se remarcă legături strînse ale mitocondriei cu reticulul endoplasmic mărginit de ribozomi. O ansă a reticulului endoplasmic poate coafa extremitatea unei mitocondrii. Este de notat, în acest caz, absenţa ribozomilor, pe latura peretelui reticulului endoplasmic ce vine în contact cu mitocondria. După hepatectomie parţială s-a observat că reticulul endoplasmic se găseşte în mod electiv plasat în vecinătatea mitocondriei. Rapoartele dintre mitocondrie, centriol şi derivatul acestora — filamentul axial — sînt foarte caracteristice în cursul dezvoltării spermatozoidului. În neurohipofiză există o relaţie topografică a neurosecreţiei, cu mitocondria. Observaţii similare au fost făcute şi pe submandibulara de iepure, care au condus la concluzia că există chiar un transfer de prosecreţie, din interiorul mitocondriei în citoplasmă. *Transformarea mitocondriilor în alte organite* este legată de ipoteza lui Wilson, care încă din

Scanned with OKEN Scanner

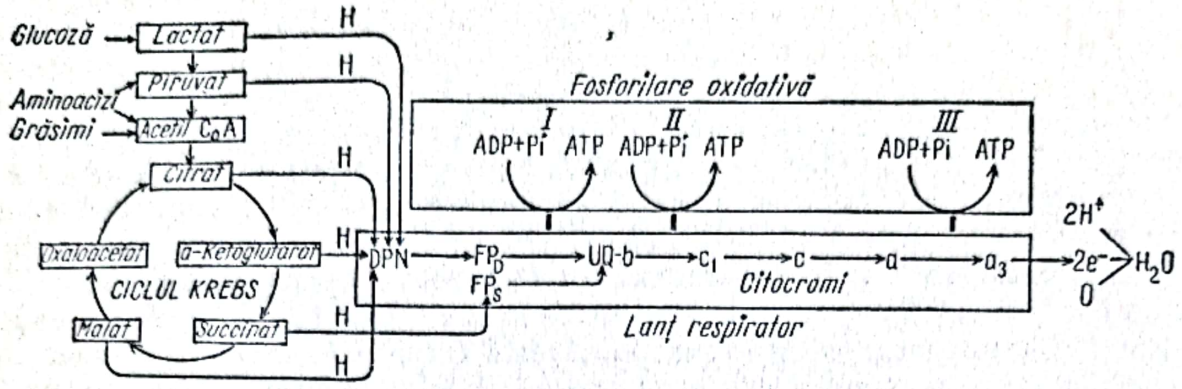


Fig. 61. Aspect al procesului de fosforilare oxidativă prin care energia din oxidare este folosită în scopul producerii ATP.

1928 a afirmat că sînt puține formațiuni citoplasmatice care să nu fie presupuse a fi produsele condromului. Această transformare are loc și se produce singur pentru învelișul piesei mijlocii a spermatozoidului. Mitocondriile ar reprezenta de asemenea și originea unor paranuclei. Este îndoielnic dacă mitocondriile sînt capabile de a se transforma n picături grase. Se pune însă problema implicării lor în formarea incluziunilor de proteine din citoplasmă. Este sigur faptul că în celulele epiteliale renale, care au absorbit picături proteice, numărul mitocondriilor și concomitent activitatea succindehidrogenazei este marcat redusă.

Rolul mitocondriilor în metabolismul celular. Importanța și rolul mitocondriei în metabolismul general celular este bine cunoscută. Mitocondriile sînt considerate *termocentralele celulelor* care eliberează energia înmagazinată în molecule organice simple (hidrați de carbon, acizi grași, aminoacizi) și o transformă în legături (compuși-fosfat organic de tipul ATP), utilizabile în procesele metabolice. Mitocondria susține aproape toate procesele metabolice în citoplasmă, în virtutea poziției lor, în procesul de fosforilare oxidativă și transport de electroni. Eliberarea energiei chimice înmagazinată în molecule organice se realizează prin *procese oxido-reductoare*. Mitocondriile sînt cele mai bine echipate enzimatic pentru a realiza acest proces și funcția principală a mitocondriei este legată de intervenția acesteia în procesul de oxidare intracelulară. Oxidarea celulară este mecanismul fundamental prin care se realizează un transfer de electroni de pe substrat pe oxigenul molecular, deci este procesul prin care energia din principiile alimentare este pusă la dispoziția celulei. Procesul de transfer de electroni se produce cu ajutorul transporturilor de electroni (vectori) mitocondriali, reuniți sub denumirea generală de circuit sau *lanț respirator* (Fig. 61). Hidrogenul este transportat de la produșii intermediari și este captat de coenzima NAD care conține nicotinamidă. Electronii hidrogenului sînt trecuți în lungul seriei enzimelor respiratorii — de notat flavoproteinele galbene și citocromii roșii, ultimele combinîndu-se cu protonii și oxigenul pentru a forma apă. După cum s-a arătat, mitocondriile conțin întregul echipament enzimatic, adică enzimele și coenzimele specifice, care constituie un lanț respirator complet, sau lanțul transportor de electroni și care sînt loca-

Scanned with OKEN Scanner

lizate în membranele mitocondriale. S-a sugerat că există în mitocondrie două lanţuri transportoare de electroni. Unul care trece prin piridin nucleotide (de la NAD) şi citocrom C-reductază şi apoi la citocrom-C, şi s-a propus şi o cale alternativă în care vitamina K este factorul important. În ultima vreme s-au descoperit noi căi de oxidare celulară pe baza evidenţierii unor factori în lanţul respirator: coenzima Q, vitamina E şi de aici rolul lor posibil în transferul de electroni. Transformarea energiei chimice în energie utilizabilă de celulă în procesele metabolice se face prin *procesele de fosforilare.* Astfel, energia electronilor eliberată de-al ungul lanţului respirator, în mitocondrii, se captează şi se foloseşte la sinteza ATP numai după conversiunea ei în legături fosfat macroergice. Formarea legăturilor fosfat macroergice ale ATP se realizează prin transferarea fosfatului organic bogat nî energie la ADP (proces de fosforilare). Deci oxidarea şi fosforilarea sînt *cuplate — de aici denumirea de oxidare fosforilantă sau fosforilare oxidativă.*

Mitocondriile sînt principalul loc unde se produc cuplarea procesului de fosforilare cu oxidarea, în care sînt implicate sisteme enzimatice complexe. În condiţii fiziologice, cuplarea oxidării cu fosforilarea este obligatorie, ea reprezentînd un mecanism de control ingenios, prin care producerea energiei este reglată de cantitatea de energie consumată. Oxidarea şi fosforiarea, funcţia primară mitocondrială, constituie un ansamblu de o remarcabilă autoreglare, avînd ca rezultat sinteza de ATP.

Pe de altă parte, ciclul acizilor tricarboxilici este cuplat şi el cu procesul de fosforilare oxidativă; enzimele respective (succindehidrogeneza, macilodehidrogenaza, izocitricodehidrogenaza) complimentare lanţului oxido-reductor, sînt aranjate în ansambluri enzimatice şi sînt asociate cu mitocondria, (după cum s-a mai arătat), constituind de asemeni o sursă de producere de ATP. ATP-ul produs în mitocondrie reprezintă sursa majoră de energie, pentru cele mai multe reacţii care au loc în citoplasmă şi în mod special în interiorul mitocondriei (sinteza fosfatidelor mitocondriale, a proteinelor şi probabil a acizilor graşi). Sarcozomii care în realitate sînt mitocondrii musculare produc ATP în scopul contracţiei musculare. Este posibil ca sinteza de proteine din citoplasmă — funcţie principală a ribozomilor —, să depindă de energia produsă în mitocondrie. Ciclul acizilor tricarboxilici (ciclul Krebs) şi procesele de fosforilare oxidativă sînt cicluri de transmutare a energiei, mitocondriile fiind organitele celulare ce pot fi considerate adevăraţi transformatori de energie. Energia născută din compuşii prezenţi în celulă este transformată în energie biologică; mitocondria eliberează această energie ori de cîte ori este nevoie şi oriunde este necesară, pentru activităţi de ordin chimic, osmotic sau mecanic, în celulă.

Mitocondriile sînt şi *sediul localizării enzimelor, care catalizează oxidarea acizilor graşi ce sînt degradaţi pînă la* CO_2 *şi* H_2O. Produsul terminal al beta-oxidării acizilor graşi din helixul Lynen (acetyl-CoA) alimentează direct ciclul acidului citric, prin intermediul enzimei citrat-sintetază.

Implicarea mitocondriei în *metabolismul intermediar al aminoacizilor* este legată de prezenţa unor transaminaze de tipul glutamic piruvic transaminazei, enzimă marker şi enzimă cheie a ciclului de transaminare clasic mitocondrial.

Scanned with OKEN Scanner

Mitocondria este sediul unor interacţiuni complexe între aminoacizi şi derivaţii lor variaţi; ea este capabilă de *oxidarea colinelor, betainei şi glicinei.* Calea de metabolizare a glicinei cunoscută sub numele de ciclul lui Shemin sau *ciclul succinatglicină,* foarte utilă organismului şi de mare importanţă în formarea protoporfirinei şi deci a hemului, se produce la nivelul mitocondriei. Asocierea directă a mitocondriei cu *activitatea secretorie a celulelor* a putut fi observată în glandele salivare. În stadiul de repaus mitocondriile sînt în număr redus, alungite şi distribuite la întîmplare în citoplasmă, iar în stadiul de sinteză a granulelor secretorii, mitocondria creşte de două sau trei ori în diametru, şi prezintă o matrice voluminoasă, care sugerează acumularea materialului. Produsul de secreţie este localizat la suprafaţa de contact cu mitocondria, observaţie care duce la ideia unei eventuale segregări sau sintetizări la nivelul acestui organit, a materialului secretat, care ulterior va fi eliberat în citoplasmă. Mitocondriile sînt activ angajate în *sinteza hormonilor steroizi.* Dacă se produce o stimulare a hipofizei, cu hormoni adrenocorticotropi, în zona fasciculată a corticosuprarenalei are loc o multiplicare a numărului de mitocondrii, o creştere dimensională a acestora, cu accentuarea structurii lor veziculare. Este de altfel bine cunoscut faptul că sinteza intensă a steroizilor în condiţii normale are loc în aria unde mitocondriile sînt numeroase şi mai mari. De aci rezultă că variaţia structurii interne mitocondriale este sub control hormonal şi în mod specific legată de activitatea secretorie a glandei. S-a menţionat deja şi în alte ţesuturi ca cel muscular neted şi striat că există o strînsă interrelaţie între *dimensiunea şi numărul mitocondriilor şi între activitatea lor metabolică.* În concluzie, se poate spune deci că mitocondria este un organit citoplasmatic indispensabil metabolismului celular şi tisular.

ORGANITELE FOTORECEPŢIEI

Studiul fotoreceptorilor prezintă nu numai un interes biologic general, ci şi un interes particular pentru înţelegerea proceselor energetice celulare, a proceselor de fotorecepţie şi fotosinteză, datorită asemănărilor de structură pe care le prezintă cu mitocondria.

— În celulele animale, *fotoreceptorii* sînt reprezentaţi de un mozaic de elemente sensibile la lumină, din retină, formate dintr-un segment intern şi un segment extern de forma unui bastonaş sau con, cu un înalt grad de orientare moleculară. Aranjamentul structurii segmentului extern al celulelor cu con şi bastonaş este specific. Sînt structuri dublu membranoase, sisteme lamelare de natură lipoproteică, de aspectul unor plăci sau discuri cu dimensiuni moleculare de 50—200 Å. Acest tip de organizare, confirmat de studiile de microscopie electronică, aminteşte aspectul ultrastructural al mitocondriei. În ceea ce priveşte organizarea biochimică, datele experimentale precizează că sistemele lamelare lipoproteice conţin şi pigmenţi vizuali-retinina-1 sau

Scanned with OKEN Scanner

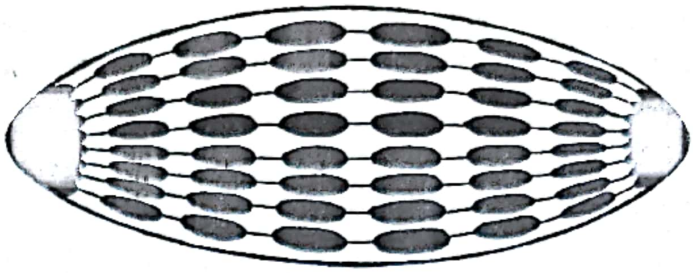


Fig. 62. Structura cloroplastului.

retinina-2 (aldehidele vitaminei A). Fotoreceptorii din retina de la vertebrate sînt celulele înalt diferenţiate care participă activ la transformarea energiei luminoase în excitaţie nervoasă.

— În celulele plantelor, pe lîngă mitocondrii s-a observat şi prezenţa altor organite citoplasmatice — *plastidele*. Din punct de vedere morfologic, plastidele sînt de trei tipuri: *cloroplaste, leucoplaste* şi *cromoplaste*. Cele trei tipuri de plastide sînt în relaţie strînsă unele cu celelalte. Leucoplastele pot genera cloroplaste şi cromoplaste, iar cloroplastele pot forma cromoplaste.

Cloroplaştii transformă energia luminoasă în energie chimică care este înmagazinată în legături moleculare organice şi care se consumă cu formare de ATP. Cloroplastul este considerat prototipul plastidelor, se întîlneşte la toate plantele şi are o formă lenticulară cu un diametru de 4—6 microni. O secţiune prin cloroplast la microscopul electronic este dată în figura 62. Membrana cloroplastului este dublă şi formată din două structuri continue de lipoproteine de 25 Å dispuse de o parte şi de alta a unui strat median de 35 Å. Porţiunea internă a cloroplastului este formată dintr-o stromă omogenă, cu o densitate mai mică la microscopul electronic şi care conţine un sistem clorofilă, 40—50% de lamele paralele. Aceste lamele se extind în lungimea cloroplastului şi nu sînt în relaţie directă cu pereţii celulei. M e n c k e l propune termenul de tylacoid pentru a desemna toate aceste lamele cu circuit închis. Ele sînt constituie din vezicule sau saculi, aplatizaţi şi de aspect gol în interior. Membrana care limitează tylacaidul are o structură conformă aceleia descrisă de R o b e r t s o n pentru membranele celulare în general. Deci modelul membranei tylacoidului este în acord cu conceptul de membrană „unit". Sistemul de membrană internă a cloroplastului conţine subunităţi, de-a lungul suprafeţei, ce au fost numite *quantozomi*. Fiecare quantozom are aproximativ 180—200Å în diametru şi o greutate moleculară de 2×10^6 şi pare o fi format din trei sau patru subunităţi de aproximativ 90 Å fiecare. Quantofi calificat ca o unitate fotosintetică. Cloroplastele conţin 4—7% proteine zomul este expresia morfologică a unităţii fotosintetice. O unitate fotosintetică conţine aproximativ 230 de molecule de clorofilă şi cel puţin unul din compuşii cunoscuţi ai lanţului de transport de electroni, din membrana cloroplastului. În concluzie deci, pe baza compoziţiei chimice, quantozomul poate şi 25—30% lipide. Clorofila este o porfirină similară cu hemoglobina. Un cloroplast conţine 2×10^9 molecule clorofilă — indiferent de specia de plante căreia îi aparţine. Examinarea cloroplastului la plantele superioare, la microscopul cu contrast de fază, duce la constatarea că moleculele de clorofilă aşezate în cloroplaşti nu sînt dispuse dezordonat şi formează faţele concentrate

Scanned with OKEN Scanner

în mase lenticulare de 1—2 microni în diametru şi de cîţiva zeci de microni grosime şi descrise sub numele de „grana". Cloroplaştii conţin şi toate moleculele specializate — vectorii electronilor care împreună cu clorofila participă la procesul de fotosinteză. S-a descris şi prezenţa unei proteine structurale şi mici cantităţi de ARN aproximativ 1%. În cloroplastele de *Chlamidomonas* s-a pus în evidenţă ADN. ADN este Feulgen pozitiv şi a fost observat şi la microscopul electronic sub aspectul unei structuri filamentoase. Studiile recente de microscopie electronică au demonstrat că lumina induce schimbări ale formei şi volumului cloroplastului. Trebuie menţionat însă că influenţa luminii asupra morfologiei cloroplastului (formă şi volum) este complexă, deoarece lumina poate determina şi reacţii secundare, în celulă, care pot masca modificările de formă şi volum ale cloroplastului. Este de asemenea interesant de precizat că umflarea cloroplastului este dependentă de lumină, dar nu şi de ATP. În sfîrşit se presupune că la baza schimbărilor de volum ale cloroplastului se află un mecanism contractil şi este deci posibilă existenţa unei proteine contractile în cloroplast. Funcţia cloroplastului este de a efectua cel mai complex *proces de fotosinteză*. Lumina solară de anumite lungimi de undă este absorbită de către pigmentul verde, clorofila, responsabilă de reacţiile la lumină cît şi de reacţiile de transport de electroni ale fotosintezei. Fotosinteza este divizată în trei reacţii: *fotofosforilarea, fotoliza apei şi transformarea* CO_2. Reacţiile la lumină şi asociate cu ele, reacţiile de transport de electroni sînt localizate în sistemul de membrană a cloroplastului. Din combinarea studiilor citologice cu cele biochimice s-a demonstrat că întregul proces fotosintetic este localizat în cloroplast. Cloroplastele sînt generate de alte cloroplaste. Ele intră în categoria organitelor celulare, care se reproduc ele înseşi. Ca şi cromozomii sînt transportoare ale caracterelor ereditare. Materialul ereditar conţinut în plastide este numit plastom sau plastidom; el este complet independent de procesul cromozomial ereditar.

Asemănări şi deosebiri între mitocondrie şi plastide. Cloroplastele sînt considerate omologi ai mitocondriilor celulelor animale. Ele prezintă o asemănare remarcabilă. Respiraţia se efectuează cu ajutorul mitocondriilor care există în număr mare aproape în toat celulele; fotosinteza este asigurată de cloroplaşti structuri citoplasmatice ce se găsesc în celulele plantelor verzi. Aceleaşi mecanisme moleculare transferă energia liberă obţinută pe seama alimentelor sau a luminii solare de la centrii de respiraţie şi fotosinteză în toate sectoarele celulei, asigurînd efectuarea tuturor proceselor ce decurg cu consum de energie. În adevăr, transportorii de electroni din circuitul respirator sînt foarte similari chimic cu vectorii ce participă în procesul de fotosinteză. Printre ei există de exemplu structuri riboflavinice şi citocromice similare şi analoge cu structurile cloroplastului. Dar descompunerea substanţelor nutritive cu prilejul respiraţiei este un proces invers procesului de fotosinteză prin care eliminarea electronilor din apă duce la formarea oxigenului. Şi dacă cloroplastul funcţionează vis-a vis de lumină, mitocondria funcţionează vis-a vis de oxigen. Ambele posedă un mecanism osmotic şi două tipuri de mecanisme active, pentru schimbările de volum. Dar în timp ce în mitocondrie cele mai multe studii

Scanned with OKEN Scanner

au demonstrat că umflarea este dependentă de energie, deci este procesul care solicită energie, în cloroplast concentraţia este dependentă de energie. Lucrările lui Fernandez-Moran din 1964 au demonstrat existenţa unei relaţii între quantozomii cloroplastului şi subunităţile mitocondriale, în ceea ce priveşte morfologia, compoziţia chimică şi faptul că ambele folosesc aceeaşi cale de transfer de energie. Este de remarcat faptul că cele două sisteme prezintă şi diferenţe, legate de prezenţa pigmenţilor fotosintetici şi a altor componenţi lipidici din structura quantozomului, care sînt absenţi în mitocondrie. Relaţia dintre proteina contractilă din membrana mitocondriei şi membrana cloroplastului este de un interes particular. Proteina care formează jumătate din masa membranei cloroplastului este similară cu proteina structurală a mitocondriei descrisă de Criddle (1962). Prin analogie cu proteina structurală a mitocondriei, proteina cloroplastului a fost numită proteină structurală. Atît mitocondria cît şi cloroplastul sînt dotate cu un complement ARN şi ADN, în cantităţi aparent corespunzătoare cu acele necesare pentru sinteza unei noi mitocondrii sau cloroplast. În concluzie deci, deşi respiraţia celulară si fotosinteza sînt două procese în aparenţă complet diferite, ele au loc la nivelul unor structuri citoplasmatice, care prezintă asemănări remarcabile.

LIZOZOMII

Lizozomii sînt organite citoplasmatice, de formă rotunjită, delimitate de membrane lipoproteice şi caracterizate printr-un foarte bogat conţinut în enzime hidrolitice. Noţiunea de lizozom a apărut iniţial ca un concept pur biochimic, ca urmare a studiilor biochimice ale lui De Duve (1955), care a reuşit să izoleze prin ultracentrifugare din fracţiunea mitocondrială o subfracţiune compusă din particule delimitate de membrane şi cu dimensiuni apropiate de mitocondrii, caracterizate printr-un conţinut bogat în hidrolaze acide. Existenţa acestor particule, bogate în hidrolaze acide, a fost ulterior confirmată (Novikoff, 1956) şi pe calea observaţiilor la microscopul electronic, mai întîi pe fracţiunea obţinută prin ultracentrifugare şi ulterior pe secţiuni celulare ultrafine. Curînd, lizozomii au fost omologaţi cu corpusculii denşi peribiliari din hepatocite şi cu particulele dense observate în ultrastructura nefrocitelor, macrofagelor şi granulocitelor neutrofile. O etapă hotărîtoare în aprofundarea cunoştinţelor asupra biologiei lizozomilor a început o dată cu îmbinarea metodelor chimice cu cele morfologice prin intermediul reacţiilor histochimice. Ca urmare, utilizînd drept markeri lizozomali reacţiile histoenzimologice, pentru localizarea hidrolazelor acide, s-a putut indentifica cu precizie topografia acestor organite la nivelul celulei.

Studiile de *microscopie electronică* (începute încă în 1956 pe material biochimic şi continuate ulterior pe celula însăşi), precum şi *reacţiile histochimice* pentru hidrolazele acide (efectuate la microscopul optic şi la micros-

scopul electronic) au dovedit că lizozomii sînt prezenţi în cele mai diferite celule animale şi vegetale. Cu excepţia eritrocitelor, lizozomii au fost descrişi în toate tipurile de celule animale, uni- sau pluricelulare.

În citoplasmă, lizozomii apar sub forma unor corpusculi sferici de circa 0,2—1 micron, prezentînd aspecte variate de structură în raport cu tipul de celulă sau cu momentul ei funcţional. De obicei, ei sînt răspîndiţi în întreaga hialoplasmă. Uneori însă apar aşezaţi cu precădere în regiunea complexului golgian. Această dispoziţie, precum şi conţinutul crescut în fosfatază acidă de la nivelul particulelor zonei Golgi, a permis unor autori să emită ipoteza că veziculele golgiene reprezintă locul unde se separă hidrolazele acide de celelalte enzime cu care au fost sintetizate la nivelul ribozomilor; aici, o dată cu separarea, se va realiza şi un proces de împachetare a acestor enzime acide în membrane lipoproteice (este cunoscut faptul că aparatul Golgi este o sursă de vezicule pentru celulă).

Lizozomii sînt alcătuiţi din două componente: o *membrană* şi o *matrice*.

Membrana lizozomală a cărei existenţă a fost sugerată de De Duve în 1955 este elementul ultrastructural de bază al lizozomului. Asemănătoare celorlalte citomembrane netede, ea prezintă de regulă o structură trilaminată caracteristică sistemului *unit* de membrane al lui Robertson (1959). Groasă de 90 Å şi de obicei simetrică, ea poate prezenta ocazional asimetrii pe faţa internă sau externă. Maunsbach (1967) semnalează la nivelul nefrocitelor prezenţa unor lizozomi cu membrane trilaminate duble, groase de 65 Å fiecare şi despărţite între ele printr-un spaţiu de cîţiva Å. Această varietate de lizozomi este asemănătoare mitocondriilor, cu deosebirea că membrana lizozomală internă nu formează criste. În general, la nivelul membranei lizozomale nu au fost observate subunităţi globulare sau arcade încrucişate comparabile cu cele descrise în membranele mitocondriale sau în alte citomembrane.

Matricea lizozomului se prezintă sub două aspecte. Cel mai adesea matricea apare sub forma granulaţiilor fine risipite inegal în interiorul membranei. Alteori, în matrice se pot observa diferite structuri, ca: fragmente de membrane trilaminate, lamele aşezate concentric, sau neorientate, structuri dense, materiale cristaline, mici vezicule sau fragmente mitocondriale. Prezenţa acestora din urmă este considerată o dovadă că în citoplasmă se petrec în mod curent procese de alterare a structurilor celulare şi că dezintegrarea structurilor alterate se desăvîrşeşte în lizozomi. La microscopul electronic, matricea lizozomilor care conţine incluziuni se prezintă sub formă de corpi denşi, corpi vacuolari, corpi mielinici, corpi lamelari etc. Lizozomii cu matricea de aspect fin granular au un conţinut bogat în hidrolaze acide şi au fost numiţi *lizozomi primari*. Un asemenea tip de lizozomi sînt granulaţiile netrofilului. Cei care cuprind în matrice diferite materiale de incluzie par să rezulte din fuzionarea lizozomilor primari cu alte particule citoplasmatice lipsite de hidrolaze acide şi au fost denumiţi *lizozomi secundari*. De Duve împarte lizozomii în: 1) *Protolizozomi care corespund lizozomilor primari* bogaţi în hidrolaze (de exemplu, granulaţiile neutrofile din leucocitul neutrofil). 2) *Lizozomi secundari* care rezultă din unirea lizozomilor primari

Scanned with OKEN Scanner

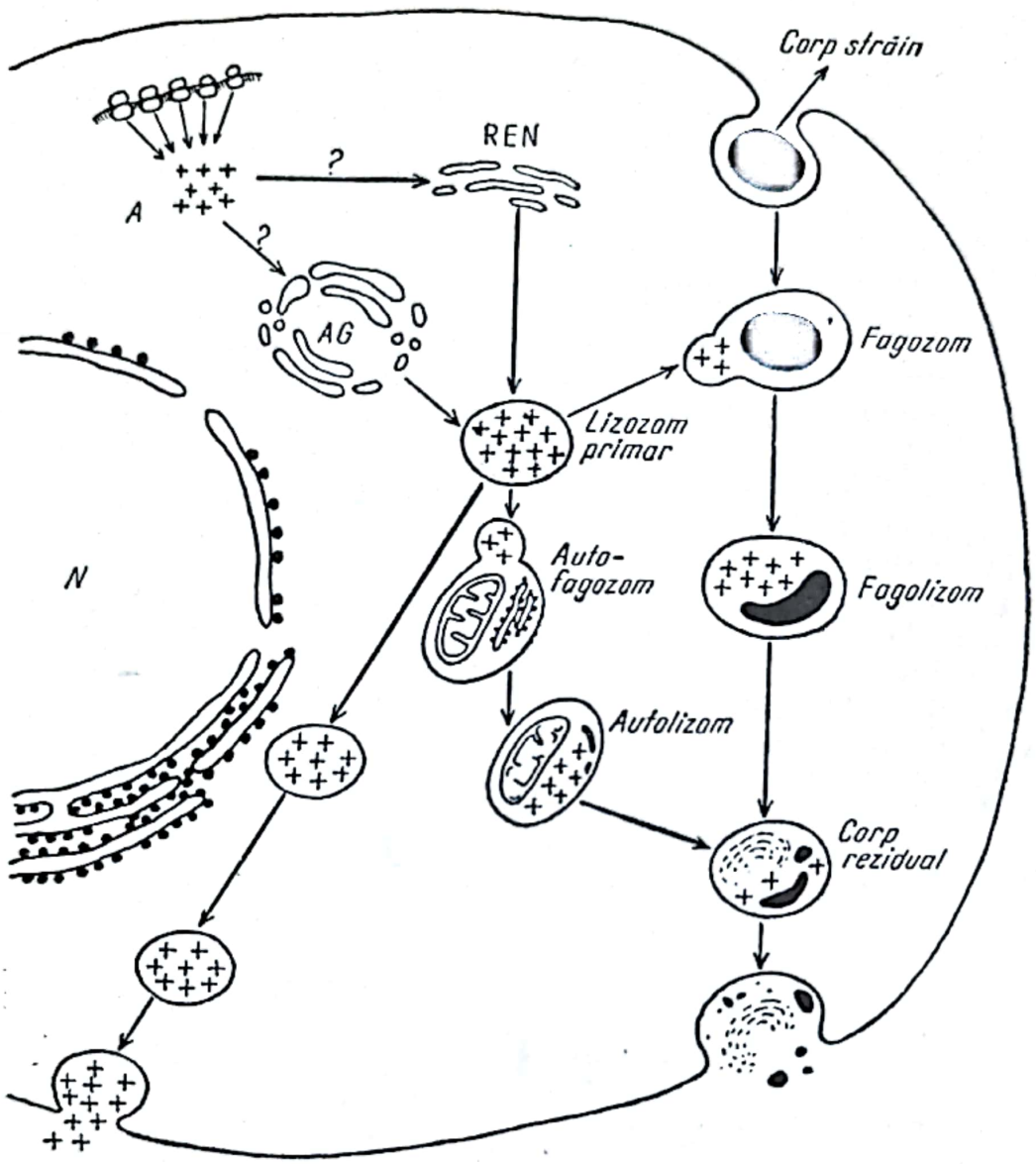


Fig. 63. Formarea lizozomilor primari şi secundari:
A — enzime lizozomale, migrînd de la sediul sintezei de proteine; REN — reticul endoplasmic neted; AG — aparat Golgi; LP — lizozom primar; AF — autofagozom; A — autolizom; F — fagozom; FL — fagolizom; CR — corp rezidual.

cu vacuole ce conţin particule de provenienţă intra- sau extracelulară — după natura materialului înglobat; lizozomii secundari se împart la rîndul lor în *autolizozomi* (cei afectaţi autofagiei) şi *heterolizomi* (cei afectaţi heterofagiei). 3) *Telolizomii* sau *lizozomii cu reziduuri* derivă din autolizozomi sau din heterolizozomi. Diversitatea de structură sub care se prezintă aceste organite celulare explică multiplele confuzii şi contradicţii cu privire la ultrastructura lizozomilor, iar faptul că pînă la ora actuală au fost folosiţi cel puţin 17 termeni pentru caracterizarea morfologică a lor reflectă incertitudinea unei recunoaşteri a lizozomilor după criterii morfologice unice. De aceea, din colectivitatea heterogenă de particule care populează citoplasma celulară, sînt

Scanned with OKEN Scanner

considerați lizozomi numai acele formațiuni, la nivelul cărora pot fi puse în evidență hidrolazele acide prin teste histochimice. În mod curent, pentru detectarea lizozomilor atît la microscopul luminescent cî și la microscopul electronic se folosește reacția histochimică pentru fosfataza acidă în care produsul de reacție se depune la nivelul lizozomilor. Dar, deoarece detectarea unei singure enzime nu constituie o probă de certitudine pentru integrarea unei particule citoplasmatice în categoria lizozomilor, De Duve propune drept criteriu de identificare corectă a lizozomilor detectarea concomitentă a mai multor enzime hidrolitice, asociate aceloraşi particule. Pînă în prezent, în matricea lizozomală au fost descrise un număr de circa 16 enzime care în totalitate fac parte din categoria hidrolazelor acide capabile să descompună prin hidroliză la un pH acid principalii constituenți ai materiei vii (glucide, lipide, proteine, acizi nucleici). Echipamentul enzimatic al lizozomilor este heterogen şi variază în limite largi cu specia, țesutul, tipul de celulă sau ciclul vital al lizozomilor din aceeaşi celulă. Astfel, enzimele lizozomale care sînt prezente în rinichi lipsesc în lizozomii din ficat, iar dacă una din aceste enzime este mai abundentă într-un anumit organ, ea poate fi reprezentată în cantitate mică în altul. În cadrul cercetărilor efectuate la catedra de histologie a Facultății de medicină din București se semnalează o heterogenitate chimică a lizozomilor legată de procesele de diferențiere atît la celulele cultivate in vitro cît şi în cursul dezvoltării ontogenetice a unor țesuturi. Heterogenitatea enzimatică a fost atribuită faptului că lizozomii pot, sub acțiunea unor mecanisme de reglare, să-şi modifice activitatea enzimatică în funcție de necesitățile fiziologice ale celulei.

Geneza sistemului lizozomal. Novikoff şi Esner sugerează că enzimele lizozomale s-ar forma ca şi proteinele secretorii la nivelul ribozomilor, după care ar urma calea reticulului endoplasmic, către complexul Golgi. Autorii simbolizează acest sistem complex prin inițialele GERL *(Golgi Endoplasmatic Reticul Lisosomes).*

Organizarea chimică a lizozomilor. Matricea lizozomală conține proteine (dintre care o bună parte este reprezentată, aşa cum deja am menționat, de enzime), fosfolipide, materiale PAS pozitive şi electroliți. Membrana lizozomală este de natură fosfo-lipoproteică. Prin organizarea ei chimică complexă, ea realizează izolarea hidrolazelor acide lizozomale de restul citoplasmei. După concepția lui De Duve, atîta timp cît integritatea structurală a membranei este păstrată, enzimele sînt menținute în *stare de latență* în interiorul lizozomilor. În momentul în care această integritate este pierdută, fie enzimele lizozomale difuzează în celulă, fie substanțele cu greutate moleculară mică trec din citoplasmă în lizozomi. În concepția lui Holt (1963), modificările de permeabilitate a membranelor lizozomale ar putea fi atribuite unor schimbări intervenite în structura moleculelor care intră în constituția ei, respectiv stării de contracție sau de decontracție a lanțurilor ei polipeptidice (o membrană cu lanțuri polipeptidice strînse nu permite activarea enzimelor lizozomale). În conformitate cu concepția lui Fischmann (1967), enzimele liozomale par să fie localizate în însăşi grosimea membranei, constituind foița proteică internă din structura ei trilaminată, sugerînd o organizare mole-

Scanned with OKEN Scanner

cular asemănătoare enzimelor lanţului respirator din membranele mitocondriei. Activarea hidrolazelor în acest caz s-ar face ca urmare a traversării membranei lizozomale de către ioni, care ar putea juca un rol de cofermenţi pentru aceste enzime. În sfîrşit, într-o altă ipoteză, K ö n i g atribuie starea de latenţă în care sînt menţinute enzimele lizozomale conjugării lor cu complexe glicolipidice acide, legături ce determină inactivarea lor. În condiţii speciale, prin ruperea legăturilor ionice dintre glicolipidele acide şi enzime (rupere realizată prin concentraţii scăzute de cationi organici sau anorganici) enzimele lizozomale se pot activa. În concluzie, enzimele hidrolitice sînt menţinute în stadiu de latenţă în interiorul lizozomilor şi sînt activate numai sub influenţa anumitor factori din mediul intracelular, în anumite momente de funcţionalitate ale celulei. Această proprietate explică existenţa „paşnică" în sînul celulelor vii a acestor organite agresive prin conţinut, precum şi intervenţia lor energică în cazul în care integritatea lor structurală este alterată. Se cunosc în prezent o serie de substanţe chimice şi biologice care permeabilizează membrana lizozomală facilitînd trecerea enzimelor din lizozomi în mediul înconjurător (hormoni, vitamine, detergenţi). Se cunosc de asemenea şi substanţe cu acţiune inversă de întărire şi protejare a membranei lizozomale, ca, de exemplu, colesterolul, antihistaminele, glucocorticoizii, unele vitamine şi numeroase droguri.

Funcţiile lizozomilor. Prin hidrolazele acide conţinute în matrice, lizozomii sînt capabili să digere substanţe şi particule care pătrund în citoplasmă, precum şi fragmente din celulă sau ţesut. Prin această activitate, lizozomii sînt implicaţi într-o mare varietate de procese normale şi patologice. Digestia enzimatică se realizează prin două modalităţi: 1) Enzimele rămîn într-un spaţiu delimitat de o membrană, unde activate acţionează asupra materialelor ce pătrund în interiorul acestui spaţiu. 2) Vacuola lizozomală în care sînt cuprinse enzimele lizozomale se deschide, hidrolazele sînt puse în libertate în citoplasmă, unde vor acţiona asupra diverşilor componenţi celulari.

Primul mod de acţiune este implicat în procesele de digestie intracelulară a substanţelor exogene înglobate prin endocitoză (heteroliză) şi în digestia componentelor citoplasmatice agregate în focare de autoliză (citoliză localizată). Heteroliza sau adevărata digestie intracelulară este legată de endocitoză (înglobarea materialelor în celulă prin fagocitoză, coloidopexie, rofeocitoză, pinocitoză). În procesul digerării materialelor exogene (macromolecule, particule coloidale, bacterii, viruşi), incluse în celulă prin endocitoză, S t r a u s s distinge trei etape funcţionale: de ingestie, digestie şi egestie. Într-un prim timp, particulele străine sînt înglobate într-o veziculă pe care el a denumit-o *fagosom*. Fagosomul se uneşte într-o fază mai avansată cu unul sau mai mulţi lizozomi atraşi de acesta printr-un tactism special, iar conţinutul lizozomal se va vărsa în fagosom. Din această fuziune rezultă *fagolisomul sau vacuola digestivă* la nivelul căreia are loc digestia materialului inclus în celulă. Într-o ultimă etapă, în cazul în care din materialul digerat mai rămîn resturi insolubile (depozite de fier, calciu, lipofuscine, ceroide etc.), fagolismul se transformă într-o *vacuolă reziduală*. În mod obişnuit, vacuolele reziduale precum şi lizozomii care au participat la procesul de digestie sînt eliminaţi din ce-

Scanned with OKEN Scanner

lulă. Procesul de heterofagie şi heteroliză asigură nutriţia celulei prin digestia intracelulară a macromoleculelor incluse din mediul exterior. Totodată, prin procesul de heteroliză lizozomii intervin în procesele de apărare împotriva bacteriilor sau altor microorganisme. Exemple în acest sens sînt date de celulele sistemului reticuloendotelial, de leucocitele neutrofile a căror granulaţii au fost omologate cu lizozomii. În momentul activităţii heterofagice se observă la neutrofile un fenomen de degranulare care a fost legat de eliberarea conţinutului enzimatic din granulaţii şi vărsarea lui în fagosomi. Acest tip de degranulare asociat cu formarea vacuolelor digestive se deosebeşte de procesul de degranulare observat la pătrunderea endotoxinelor bacteriene în celulă. În acest caz, endotoxina lizează membrana lizozomală, permiţînd difuzarea enzimelor în citoplasmă şi degradarea principalilor constituenţi citoplasmatici care pot duce la moartea celulei. Eliberarea masivă de enzime poate avea repercusiuni şi asupra celulelor sau ţesuturilor învecinate care explică apariţia unor reacţii inflamatorii.

În afară de digestia celulară asociată cu endocitoza, lizozomii intervin şi în digestia componentelor citoplasmatice ale celulei în care se găsesc (autofagie). Această intervenţie este strîns legată de segregarea anumitor zone din citoplasmă ce au suferit un proces degenrativ fiziologic sau patologic. Resturile ce rămîn din organitele citoplasmatice distruse (mitocondrii, reticul endoplasmic, macromolecule din citoplasmă etc.) se înconjură de o membrană care izolează focarul degenerat de restul citoplasmei, realizîndu-se o vacuolă denumită autofagosom. Într-o etapă următoare, autofagosomul se uneşte cu unul sau mai mulţi lizozomi, dînd naştere unei formaţiuni ce poartă denumirea de autolisom, la nivelul căreia are loc procesul de degradare a fragmentelor degenerate sub acţiunea hidrolazelor lizozomale revărsate în această vacuolă. Autolisomii au fost observaţi în diferite tipuri de celule normale sau patologice. În condiţii fiziologice normale, prin procesul de autodigestie localizată lizozomii intervin în eliminarea unor constituenţi celulari distruşi prin hiperfuncţia celulei. Aceasta este în special soarta mitocondriilor din hepatocit care se distrug în număr mare şi în timp foarte scurt (o mitocondrie pe minut) sau a organitelor celulare în timpul maturării normale a eritocitului. O parte din proteinele solubile din citoplasmă par să fie şi ele metabolizate de hidrolazele lizozomale. Procesul de autofagie pare să intervină şi în celulele indivizilor aflaţi în inaniţie (înfometare) cînd ele pot supravieţui prin hrănire cu substanţele rezultate din hidroliza unor constituenţi celulari fără ca restul celulei să sufere. În cazuri patologice (anoxie, diferite stressuri), formarea citolizomilor are caracter reversibil. Ca şi fagolizomii, autolizomii, după ce au digerat formaţiunile incluse, pot să se transforme în corpi reziduali. În mod obişnuit, resturile fosfolipidice apar sub forma unor figuri mielinice, în interiorul acestor vacuole reziduale, ca urmare a absenţei enzimelor capabile să le degradeze. În acest fel poate fi explicată acumularea în cantităţi crescute a fosfolipidelor la nivelul endoteliilor vasculare în procesul de ateroscleroză. În general, prin proteoliza materialului înglobat în vacuolele digestive se produc mici molecule

Scanned with OKEN Scanner

de peptide sau de acizi aminaţi, care, traversînd membrana vacuolei, ajung în citoplasmă sau mai departe în mediul extracelular, unde constituie un adevărat depozit de molecule simple proteice necesare constituirii de noi macromolecule şi structuri. (Procesul de digestie localizată este ilustrată în fig. 63.)

În afară de procesul de digestia intracelulară în care eliberarea enzimelor se face în interiorul unei vacuole, cel de-al doilea mecanism se referă la *eliberarea în citoplasmă a enzimelor hidrolitice cuprinse în lizozomi*. Eliberarea bruscă a hidrolazelor acide este urmată de degradarea componenţilor celulari. Prin acest mod de acţiune, lizozomii sînt implicaţi într-o mare varietate de procese de autoliză celulară, fiziologică sau patologică care se soldează cu moartea celulei. Intervenţia lizozomilor în procesul de *autoliză celulară fiziologică* este întîlnită în cursul fertilizării oului, în involuţia unor organe în dezvoltarea ontogenetică (canalul Müller) în involuţia glandei mamare după ablactare, la nivelul celulelor sebacee care suferă fenomenul de necrobioză etc. În *condiţii patologice*, procesul de autoliză celulară ca urmare a eliberării enzimelor lizozomale a fost descris în reacţii imunologice, în inflamaţie, hipoxie, necroză tisulară cauzată de diferiţi agenţi toxici etc. În toate aceste procese apar o serie de factori care modifică permeabilitatea membranei lizozomale, pînă la alterarea ei, urmată de eliberarea bruscă şi masivă a enzimelor acide în citoplasmă. Allison (1966) sugerează că alterarea permeabilităţii membranei lizozomale şi eliberarea enzimelor ar fi o consecinţă a peroxidării lipidelor din structura membranei lizozomale. Tratamentul cu cortizon previne procesele degenerative celulare prin acţiunea protectoare pe care acest hormon o exercită asupra membranei lizozomale.

În afară de intervenţia lizozomilor în procesele de autoliză generalizată a citoplasmei cu consecinţa alterării ei ireversibile (morţii celulare), studii recente atrag atenţia asupra implicării lizozomilor în stimularea procesului de diviziune celulară. Allison şi Malucci susţin că în cazuri speciale sub acţiunea unor factori mitogeni, s-ar produce o permeabilitate selectivă a membranei lizozomale, care favorizează eliberarea unora dintre enzimele hidrolitice ce intervin prin inactivarea represorului diviziunii. Autorii au arătat că agenţii mitogeni care cresc permeabilitatea membranei lizozomale (de exemplu, fitohemaglutinina) pot să fie inhibaţi de agenţii care stabilizează membrana lizozomală (cortizonul).

Eliberarea selectivă a enzimelor lizozomale în citoplasmă în anumite circumstanţe poate produce modificări şi la nivelul cromozomilor. În acest sens s-a arătat că i u[n]ecula de DNA-ază lizozomală (care are două porţiuni active) este capabilă actu[a]rupă ambele catene ale duplexului ADN în acelaşi timp, producînd [a]deri ale cromozomilor. Astfel de modificări cromozomiale sînt întîlnite în [p]rocesele de carcinogeneză; dintre cei mai cunoscuţi agenţi cancerigeni care [a]ionează prin eliberarea DNA-azei lizozomiale citäm radiaţiile ionizante, hidrocarburile polibenzoide, foliculina eliberată în exces, diferiţi viruşi.

Recent au fost aduse dovezi care sugerează că în afară de activitate distructivă, enzimele lizozomale eliberate în citoplasmă pot interveni şi în anabolismul celulelor. S-a arătat în acest sens că în condiţii speciale de metabolism unele

Scanned with OKEN Scanner

de peptide sau de acizi aminaţi, care, traversînd membrana vacuolei, ajung în citoplasmă sau mai departe în mediul extracelular, unde constituie un adevărat depozit de molecule simple proteice necesare constituirii de noi macromolecule şi structuri. (Procesul de digestie localizată este ilustrată în fig. 63.)

În afară de procesul de digestia intracelulară în care eliberarea enzimelor se face în interiorul unei vacuole, cel de-al doilea mecanism se referă la *eliberarea în citoplasmă a enzimelor hidrolitice cuprinse în lizozomi*. Eliberarea bruscă a hidrolazelor acide este urmată de degradarea componenţilor celulari. Prin acest mod de acţiune, lizozomii sînt implicaţi într-o mare varietate de procese de autoliză celulară, fiziologică sau patologică care se soldează cu moartea celulei. Intervenţia lizozomilor în procesul de *autoliză celulară fiziologică* este întîlnită în cursul fertilizării oului, în involuţia unor organe în dezvoltarea ontogenetică (canalul Müller) în involuţia glandei mamare după ablactare, la nivelul celulelor sebacee care suferă fenomenul de necrobioză etc. În *condiţii patologice*, procesul de autoliză celulară ca urmare a eliberării enzimelor lizozomale a fost descris în reacţii imunologice, în inflamaţie, hipoxie, necroză tisulară cauzată de diferiţi agenţi toxici etc. În toate aceste procese apar o serie de factori care modifică permeabilitatea membranei lizozomale, pînă la alterarea ei, urmată de eliberarea bruscă şi masivă a enzimelor acide în citoplasmă. Allison (1966) sugerează că alterarea permeabilităţii membranei lizozomale şi eliberarea enzimelor ar fi o consecinţă a peroxidării lipidelor din structura membranei lizozomale. Tratamentul cu cortizon previne procesele degenerative celulare prin acţiunea protectoare pe care acest hormon o exercită asupra membranei lizozomale.

În afară de intervenţia lizozomilor în procesele de autoliză generalizată a citoplasmei cu consecinţa alterării ei ireversibile (morţii celulare), studii recente atrag atenţia asupra implicării lizozomilor în stimularea procesului de diviziune celulară. Allison şi Malucci susţin că în cazuri speciale sub acţiunea unor factori mitogeni, s-ar produce o permeabilitate selectivă a membranei lizozomale, care favorizează eliberarea unora dintre enzimele hidrolitice ce intervin prin inactivarea represorului diviziunii. Autorii au arătat că agenţii mitogeni care cresc permeabilitatea membranei lizozomale (de exemplu, fitohemaglutinina) pot să fie inhibaţi de agenţii care stabilizează membrana lizozomală (cortizonul).

Eliberarea selectivă a enzimelor lizozomale în citoplasmă în anumite circumstanţe poate produce modificări şi la nivelul cromozomilor. În acest sens s-a arătat că i u[n]ecula de DNA-ază lizozomală (care are două porţiuni active) este capabil[ă] actu[ală] rupă ambele catene ale duplexului ADN în acelaşi timp, producînd [a]deri ale cromozomilor. Astfel de modificări cromozomiale sînt întîlnite în [p]ri[n]cesele de carcinogeneză; dintre cei mai cunoscuţi agenţi cancerigeni care [a]ţionează prin eliberarea DNA-azei lizozomiale citäm radiaţiile ionizante, hidrocarburile polibenzoide, foliculina eliberată în exces, diferiţi viruşi.

Recent au fost aduse dovezi care sugerează că în afară de activitate distructivă, enzimele lizozomale eliberate în citoplasmă pot interveni şi în anabolismul celulelor. S-a arătat în acest sens că în condiţii speciale de metabolism unele

Scanned with OKEN Scanner

enzime eliberate din lizozomi participă la procese de sinteză celulară (sulfataze, proteaze).

Controlul activităţii lizozomilor pare să fie dependent de prezenţa unor agenţi biologici ca hormoni, vitamine, droguri, anticorpi. Controlul hormonal a putut fi demonstrat pe culturi de organe, unde s-a constatat că unii agenţi biologici sînt stimulatori ai activităţii hidrolazelor acide (androgeni, vitamina A), în timp ce alţii previn difuzarea enzimelor prin impermeabilizarea membranei lizozomale (hidrocorticoizii, vitamina E etc.).

Scanned with OKEN Scanner

DIVIZIUNEA CELULARĂ

Diviziunea este unul din fenomenele cele mai complexe din biologia celulară care asigură pe de o parte procesele de *creştere* şi de *diferenţiere* a organismelor, iar pe de altă parte asigură *reproducerea* lor.

Observată de mai bine de 100 de ani, diviziunea celulară comportă două variante: *mitoză*, denumită şi diviziunea indirectă sau cariokineză, şi *amitoza* sau diviziunea directă. În timp ce în mitoză din nucleu se organizează cromozomii care includ într-o formă organizată materialul genetic celular ce urmează să fie distribuit celulelor-fiice, în amitoză masa nucleară se divide fără să apară vreo modificare a substanţei cromatiniene.

MITOZA

Mitoza în concepţia clasică reprezintă ansamblul modificărilor nucleului din timpul diviziunii care culminează cu distribuirea cromozomilor între celulele-fiice. Este tipul de diviziune care păstrează la o valoare constantă numărul de cromozomi ai unei specii celulare.

În etapa actuală, numeroase cercetări realizate cu ajutorul metodelor biochimice sau de microscopie electronică au deschis orizonturi noi pentru studiul modificărilor celulare petrecute în mitoză. În concepţia actuală, noţiunea de mitoză defineşte un proces complex în care se pot distinge două stadii: a) *stadiul preparativ* al diviziunii care include duplicarea moleculelor şi ultrastructurilor ce urmează să fie împărţite între celulele-fiice; b) *stadiul distributiv* în care se realizează împărţirea propriu-zisă a celulei.

Stadiul preparativ al mitozei sau *interfaza* cuprinde perioada de viaţă celulară în care se petrec toate procesele metabolice manifestate în special prin duplicarea şi împachetarea materialului genetic celular (cromozomi), în aşa fel

Scanned with OKEN Scanner

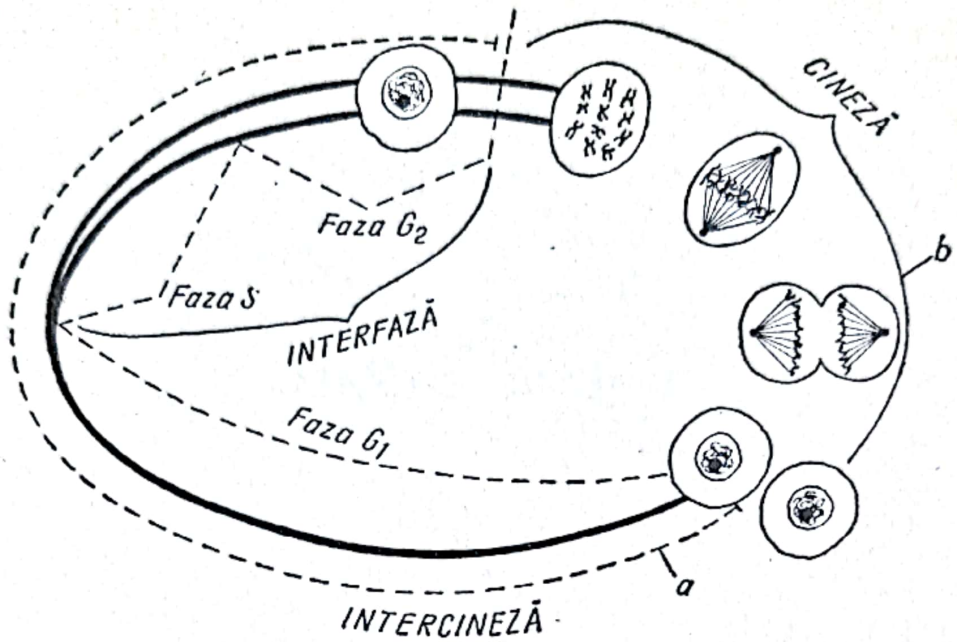


Fig. 64. Ciclul vital al celulei: a — intercineză; b — cineză.

încît să poată fi divizat şi distribuit uniform în procesul diviziunii propriu-zise. În ciclul biologic al celulei (fig. 64). Interfaza este situată înaintea diviziunii şi este deosebită de intermitoză care cuprinde tot intervalul de viaţă celulară dintre două diviziuni (fig. 64).

În cursul ultimilor ani, numeroase studii au stabilit că materialul genetic al celulei este reprezentat de ADN — substratul molecular al cromozomilor — şi de asemenea că biosinteza ADN indispensabil legată de transmiterea caracterelor ereditare are loc în interfază.

Mecanismul complicat al biosintezei ADN, a fost posibil de elucidat o dată cu descrierea structurii lui moleculare. Modelul dublu catenar al ADN propus de Watson şi Crick (1955) a servit drept bază pentru imaginarea unor modele de biosinteză a ADN între care cel care pare să corespundă realităţii este cel al *replicării semiconservative*. Modelul presupune pe de o parte separarea pe plan longitudinal a celor două catene primare din structura dublu catenară a ADN, iar pe de altă parte *biosinteza* unor noi catene după modelul celor două care, o dată separate fiecare serveşte drept iniţiatoare pentru asamblarea de nucleotide complementare (fig. 65). Acest model a fost demonstrat de Meselson şi Stahl (1958) şi este considerat astăzi modelul cel mai bun de biosinteză a ADN. El dă o soluţie logică la explicarea copierii cu precizie a informaţiei genetice în moleculele noi formate. Biosinteza noilor molecule de ADN are loc sub acţiunea ADN-polimerazei, complex de enzime care însumează două activităţi: pe de o parte catalizează ruperea lanţului de ADN (ADN-fosfatază), iar pe de altă parte sînt capabile să fixeze trifosfaţii dezoxiribonucleotidelor la capătul unei catene de ADN care serveşte drept iniţiator (nucleotid transferază). Existenţa acestei enzime a fost pusă în evidenţă la nivelul nucleilor pregătiţi pentru diviziune şi mar-

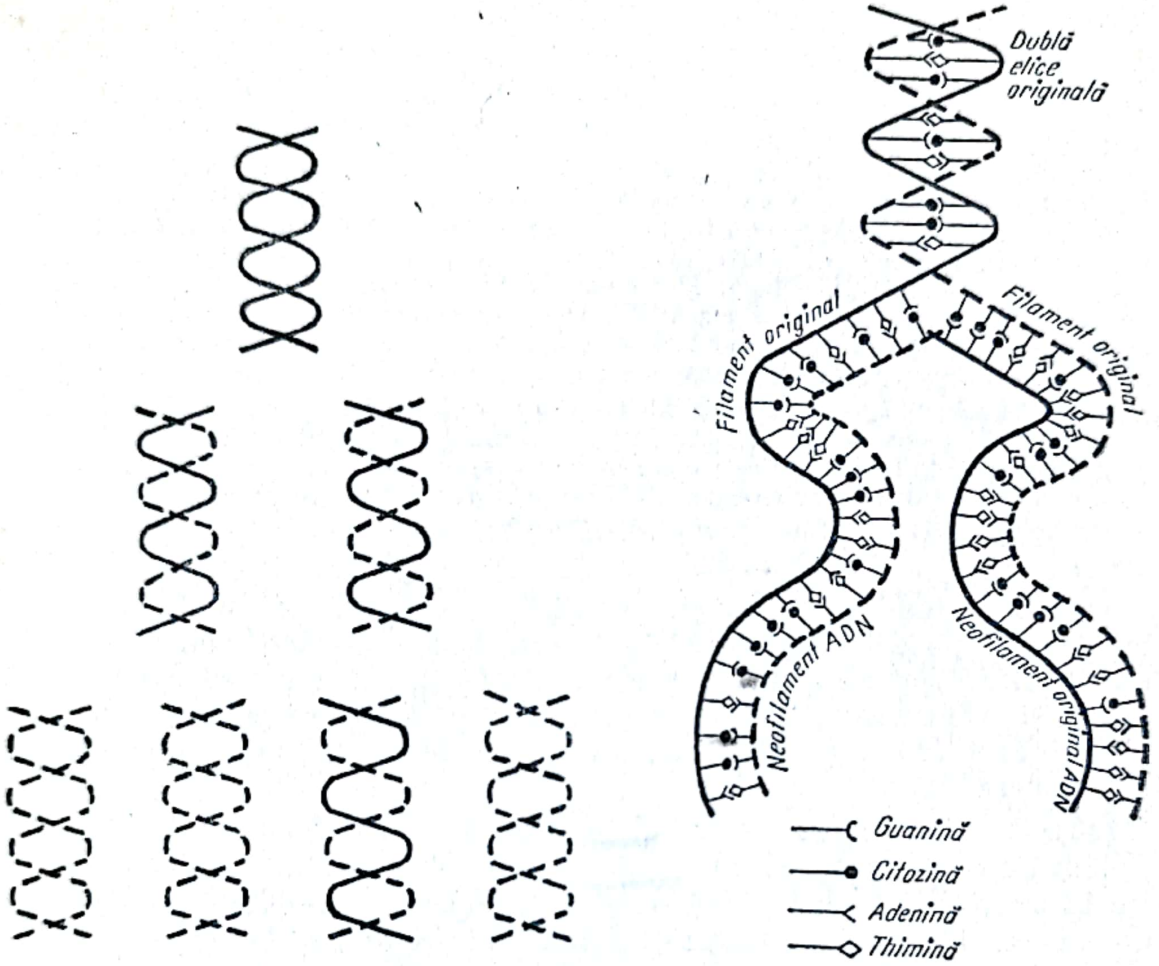


Fig. 65. Duplicarea ADN-ului şi cromatidelor după modelul lui Taylor (1963).

chează debutul interfazei în care biosinteza replicativă a ADN stă pe prim plan.

Diferite studii experimentale sugerează că dublarea cantităţii de ADN durează 6—8 ore, după care la un interval de 40—60 minuţe celula intră în diviziune. De aici s-a tras concluzia că în intermitoză cantitatea de ADN prezintă variaţii, existînd sub raportul conţinutului în ADN trei faze distincte (fig. 64):

Faza G1 (gap=gol sau lacună în sens biologic), perioada din ciclul celular situată după mitoză în care cantitatea de ADN nu se modifică. La celulele care se divid rapid, ea este foarte scurtă, în timp ce la celulele diferenţiate ea durează săptămîni, luni sau toată viaţa (celule nervoase).

Faza S (sinteză) situată la începutul interfazei este faza în care are loc dublarea cantităţii de ADN.

Faza G2 (lacună de sinteză), perioada din interfază dinaintea mitozei propriu-zisă, în care cantitatea de ADN este dublată şi rămîne constantă.

In ceea ce priveşte funcţionalitatea ADN, în cele trei perioade, cercetări recente au arătat că în faza G_1 şi G_2, ADN este capabil să servească drept matrice pentru sinteza de ARN,

în timp ce în faza S, ADN îşi manifestă numai funcţia lui autocatalitică de autoduplicare; funcţia heterocatalitică, cea de formare a ARN, încetează. Cercetări autoradiografice recente cu aminoacizi marcaţi au arătat că concomitent cu duplicarea ADN în faza S se dublează şi cantitatea de histone.

Conţinutul în ADN-histone al nucleului nu trebuie să fie numai dublat în cantitate, ci şi organizat în *cromozomul bicromatidic*. Există numeroase ipoteze asupra reproducerii materialului cromozomilor, dar mecanismul exact prin care se realizează acest proces este încă obscur. Este greu de imaginat un mecanism de replicare al ADN în structură, întrucît în cromozom molecula de ADN aparent continuă (la celulele organismelor superioare) este spiralată şi mult plicaturată. Despiralizarea fibrilelor încolăcite la ADN pare să fie favorizată de o uşoară creştere a acidităţii mediului intracelular. După ce fibrilele, dublu catenare, sînt despiralizate, ele pot fi separate, fiecare din cele două catene ale ADN servind drept tipar pentru formarea alteia noi.

Cercetări autoradiografice iniţiate de Taylor cu izotopi radioactivi de tipul timidinei marcate cu hidrogen radioactiv, introduşi în culturi de celule, demonstrează că în prima generaţie de celule fiecare din cele două cromatide apare marcată, în timp ce în a doua generaţie de celule, numai cîte o cromatidă apare marcată, ceea ce sugerează că duplicarea cromatidelor are la bază un mecanism semiconservativ (fig. 65).

Diferitele studii făcute asupra duplicării cromatidelor au demonstrat că în timpul perioadei S sinteza ADN nu este sincronă în toţi cromozomii. Asincronismul de sinteză a ADN se manifestă în special între zonele heterocromatice şi cele eucromatice ale cromozomilor, în sensul că primele care se duplică sînt zonele eucromatice, iar ultimele — cele heterocromatice (cromozomul X heterocromatic).

Întrucît la baza mecanismului de dublare a cromatidelor stă biosinteza replicativă a ADN, reiese clar că procesul de duplicare a cromozomilor care are loc în interfaza ciclului mitotic realizează copierea mesajului genetic în cele două cromatide care urmează să fie distribuite celulelor-fiice şi asigură transmiterea caracterelor ereditare generaţiilor succesive de celule. Cînd dublarea cromatidelor este terminată, se produce diviziunea celulei. Există însă cazuri în care dublarea cromozomilor apare zile sau chiar săptămîni întregi înaintea mitozei. În aceste celule, nucleii devin poliploizi (cu un număr crescut de cromozomi).

Concomitent cu modificările produse la nivelul nucleului, interfaza este însoţită şi de o serie întreagă de modificări care au loc la nivelul *citoplasmei*.

Observaţii făcute pe celulele vii în culturi de celule cu metode speciale (iluminare în cîmp întunecat, contrast de fază, microscopie de interferenţă) arată că la nivelul citoplasmei se produc modificări de formă, număr şi dimensiune, a tuturor organitelor celulare, se pierde continuitatea structurilor lamelare ale reticulului endoplasmic, aparatul Golgi se dezintegrează, celulele mai puternic diferenţiate îşi pierd granulele de secreţie sau structurile specifice. Ele devin globuloase, îşi pierd contactele cu celulele învecinate, îşi retractă prelungirile, iar masa citoplasmatică devine mai abundentă (turgescenţă celulară).

Stadiul distributiv al diviziunii (cineza sau mitoza propriu-zisă). Modificările iniţiate în interfaza ciclului celular duc la declanşarea diviziunii propriu-zise, proces în care materialul celular este împărţit în mod egal între celu-

Scanned with OKEN Scanner

lele-fiice. Trecerea de la interfază la cineză apare treptat, aşa încît este aproape imposibil de determinat exact momentul începerii diviziunii celulare.

În procesul diviziunii mitotice se disting patru faze: *profaza, metafaza, anafaza* şi *telofaza* (fig. 66). Fiecare din aceste etape ale diviziunii celulare deşi prezintă particularităţi morfologice distincte, se încadrează într-un proces funcţional continuu şi nu pot fi privite separat.

Profaza începe o dată cu evidenţierea cromozomilor sub forma unor filamente delicate, abia vizibile. Întregul grup de filamente spiralate are aspect de ghem şi o lungă perioadă de timp s-a crezut că ghemul este compus dintr-un singur filament încolăcit, iar formaţiunea spiralată a fost denumită *spirem*. Au fost aduse însă probe citologice şi genetice împotriva acestei concepţii şi astăzi se ştie că în profază ca şi în celelalte faze ale ciclului celular fiecare cromozom reprezintă o entitate cu o organizare diferenţiată şi caracteristică, ce îşi păstrează individualitatea. Cromozomii profazici sînt la început lungi şi subţiri, iar pe măsură ce profaza avansează, se îngroaşă progresiv. Îngroşarea cromozomului apare simultan cu o remarcabilă scurtare a lui, proces care comportă spiralizarea puternică o cromonemelor. Prin procesul de spiralizare se realizează scurtarea cromozomului în aşa măsură încît la sfîrşitul profazei el ajunge să prezinte 25% din lungimea lui iniţială. Mecanismul procesului de spiralizare a cromozomilor mitotici nu se cunoaşte. Unii autori atribuie această spiralizare prezenţei unei matrice cu proprietăţi contractile în jurul fibrelor cromozomiale, în timp ce alţii o pun pe seama proprietăţii de spiralizare a ADN, stimulată în diviziune de un proces de dezhidratare a proteinelor dintre spiralele ADN. Procesul de spiralizare are o importanţă deosebită. Realizînd scurtarea cromozomilor, ea le oferă avantajul de a putea face mişcări în timpul diviziunii fără riscul dispersării elementelor fibrilare care ar avea drept consecinţă o repartizare incorectă a materialului genetic ereditar. În plus, scurtarea cromozomilor le reduce rezistenţa, facilitînd mişcarea lor în procesul diviziunii celulare.

Poziţia cromozomilor în profază depinde de durata intercinezei. Dacă intercineza este scurtă şi redusă la interfază, poziţia ocupată de fiecare cromozom în profază este aceeaşi cu cea din telofaza precedentă. Acest aspect poate fi considerat ca un argument în favoarea recunoaşterii cromozomilor ca structuri care îşi păstrează individualitatea în tot cursul ciclului celular.

Dacă la începutul profazei cromozomii sînt risipiţi în oarecare dezordine în masa nucleului, pe măsură ce profaza înaintează, cromozomii tind să se apropie prin mişcări centrifuge de periferia nucleului.

Paralel cu condensarea cromozomilor, în profază apar modificări la nivelul *nucleolului*, manifestate prin dezagregarea lui. În acest proces, *pars amorfa* se amestecă în sucul nuclear, în timp ce nucleolonema se fragmentează în mici segmente care sînt transferate pe cromozomi. Ele pot să se orienteze paralel cu axul lung al cromozomului, sau se pot spiraliza o dată cu cromonema.

În sprijinul ipotezei că nucleolonema se ataşează de cromozomi, cercetări biochimice efectuate de M a i o (1967) arată că în mitoză întreaga cantitate de ARN-ribozomal din nucleol este asociată cu cromozomii mitotici.

Scanned with OKEN Scanner

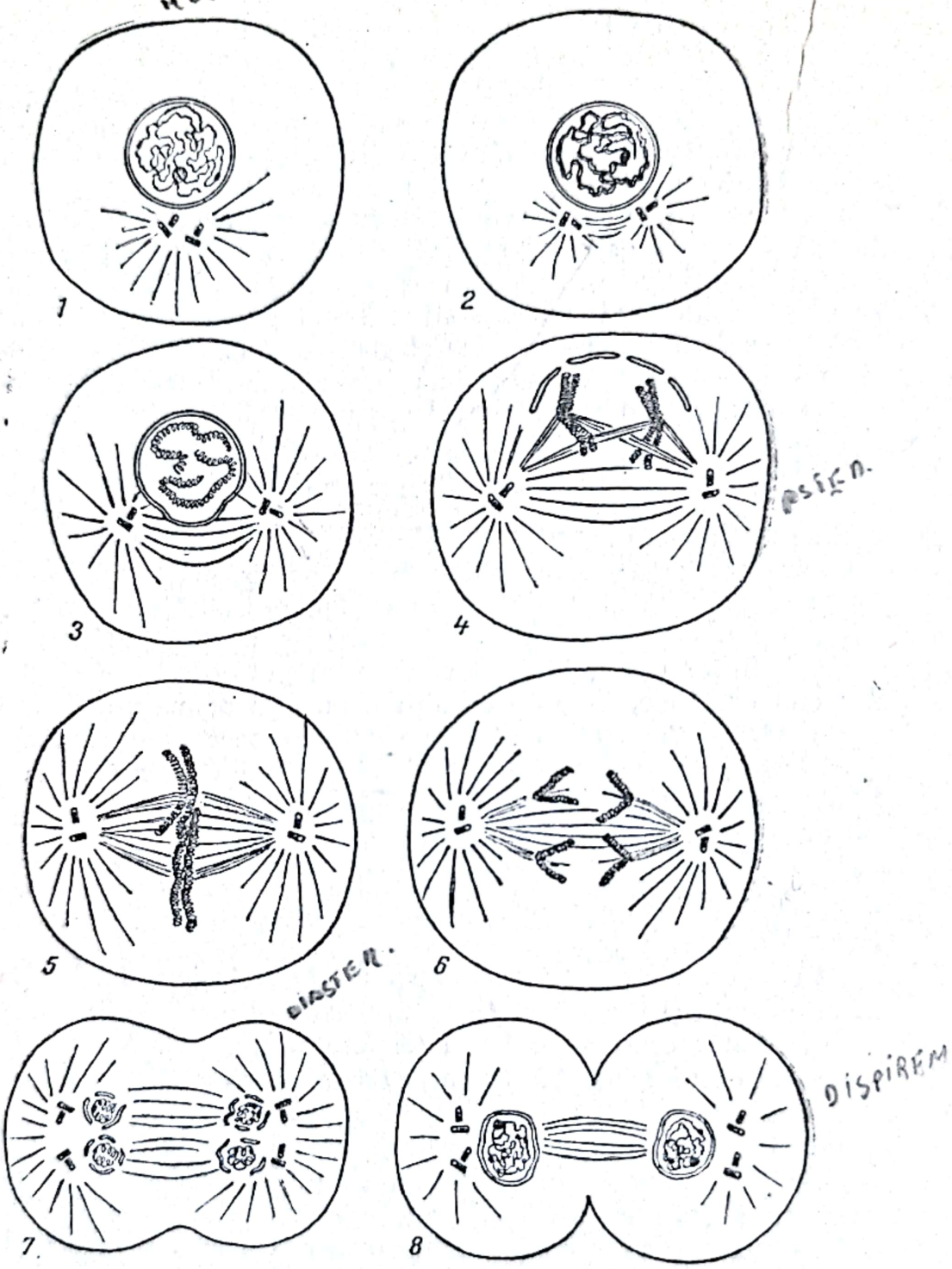


Fig. 66. Fazele mitozei:
1, 2, 3, — profaza; 4, 5 — metafaza; 6,7 — anafaza; 8 — telofaza.

În afară de modificările produse la nivelul nucleului şi care în ansamblu duc la evidenţierea cromozomilor care alcătuiesc *figura cromatică* a diviziunii, în profază pot fi observate *modificări ale citoplasmei*. Dintre organitele celulare, *centrul celular* suferă schimbări de structură şi formă care preced ciclul

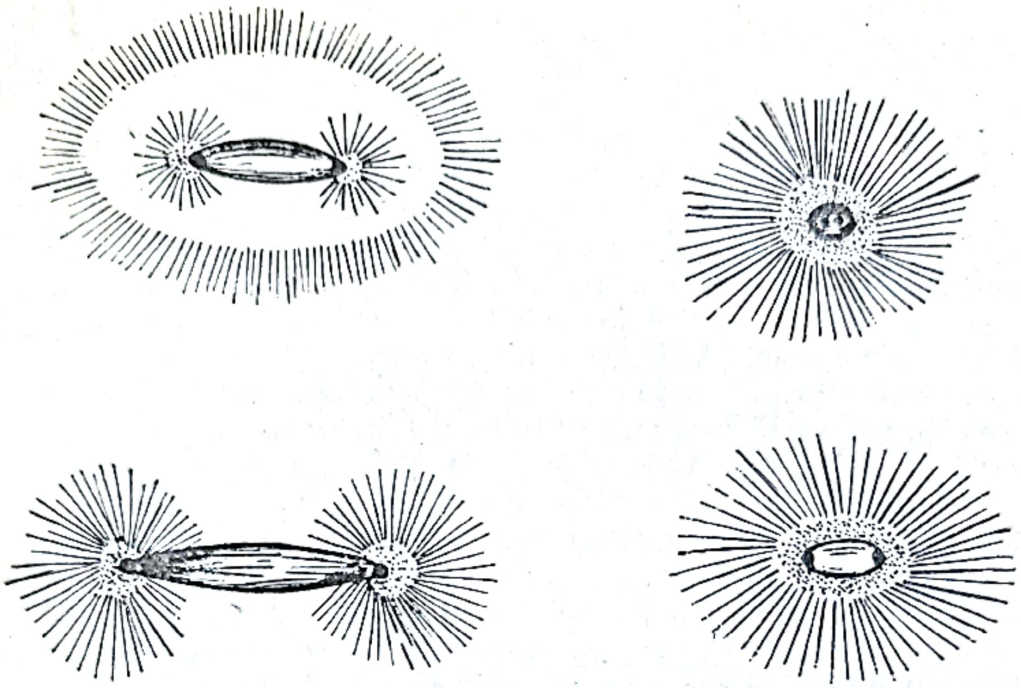


Fig. 67. Formarea fusului şi asterilor.

mitotic al cromozomilor şi determină dinamica lor (fig. 67). Centrozomul se divide, iar corpusculii rezultaţi din această diviziune care cuprind fiecare cîte doi centrioli migrează spre cei doi poli ai celulei. Ei au fost denumiţi *corpuscuii polari* (fig. 67). În jurul fiecărui corpuscul polar apar *filamente asteriene*, iar între corpusculii polari se organizează o zonă densă, numită *centrodesmoză*. Cînd centriolii s-au stabilit într-o poziţie de antipod la cei doi poli ai celulei, din centrodesmoză se diferenţiază un număr mare de fibrile ale căror extremităţi par să se insere pe centriolii de la polii celulei. Aceste fibrile ocupă porţiunea centrală a celulei cuprinsă între cei doi poli şi, datorită aspectului de fus pe care îl prezintă, totalitatea lor a primit denumirea de fus central sau *fusul de diviziune*.

Atît filamentele asteriene, cît şi fibrele fusului sînt greu de distins pe celula vie. Pe celulele fixate şi colorate, ele se evidenţiază sub forma unor filamente delicate, iar la microscopul de polarizaţie sînt birefringente.

Spre sfîrşitul profazei, între centriolii polarizaţi la capetele celulei apare un al doilea tip de fibre, care se întind de la centrioli pînă la cromozomi, unde par să se insere pe centromeri. Ele au fost denumite *fibre cromozomiale sau fibre de jumătate de fus* şi se disting net de fibrele continue ale fusului, care se întind fără întrerupere de la un pol la altul al celulei.

Ansamblul structurilor diferenţiate din citoplasmă care cuprinde centriolii împreună cu radiaţiile astrale care-i înconjură şi cu fibrele continue şi cromozomale ale fusului alcătuiesc *figura acromatică a mitozei*. Întrucît acest ansamblu de structuri este implicat în limitarea şi coordonarea mişcărilor cromozomiale, el a fost denumit *aparat mitotic*.

Scanned with OKEN Scanner

Stadiul final al profazei, numit şi *prometafază*, se caracterizează prin dezintegrarea membranei nucleare. Subsanţa intercromozomială se amestecă cu citoplasma şi devine fluidă, permiţînd cromozomilor mişcări ample. Ei migrează spre ecuatorul celulei, făcînd mişcări de balansare, înainte şi înapoi, între poli şi planul ecuatorial al celulei, sugerînd că sînt sub influenţa corpusculilor polari. Viteza de migrare a cromozomilor nu este aceeaşi pentru toţi cromozomii. S-a semnalat, în acest sens, că cromozomul X este cel din urmă care ajunge pe planul ecuatorial al celulei, la sfîrşitul profazei.

Metafaza. Figura acromatică în metafază este deplin constituită, formaţiunile fibrilare ale fusului şi asterilor ocupînd 10—15% din volumul total al celulei. Cromozomii care iau forma literei V sau L se aşază pe planul ecuatorial al celulei, unde formează un inel în jurul fibrelor fusului, denumit *coroana ecuatorială*. Dispoziţia cromozomilor pe plan ecuatorial este caracteristică. Ei se orientează cu porţiunea unghiulară către axul fusului de diviziune şi cu braţele cromozomiale către periferie, în aşa fel încît întotdeauna cromozomii mari sînt cei mai externi.

Ajunşi la ecuatorul celulei, cromozomii stabilesc legături cu corpusculii polari prin intermediul fibrelor cromozomiale. Inserate pe centromere, ele leagă una din cromatidele cromozomului bicromatidic de un corpuscul polar, iar pe cealaltă de corpusculul opus.

Metafaza este faza cea mai propice pentru studiul cromozomilor. Condensaţi la maximum, ei apar ca structuri dense şi compacte la care se pot observa toate particularităţile individuale de structură.

Anafaza. Este stadiul în care centromerii se separă pe plan longitudinal, iar cromatidele-surori se despart şi migrează simultan spre polii celulei.

Migrarea cromozomilor către polii celulei este un fenomen complex în care par să fie implicate mai multe mecanisme.

Într-o ipoteză recentă, migrarea cromozomilor este atribuită *scurtării* fibrelor cromozomiale care leagă cromozomii de polii celulei. Fenomenul poate avea loc fie a) prin contracţia fibrelor cromatiniene şi în acest caz ar interveni un mecanism analog contracţiei musculare prin care cromozomii sînt *atraşi* spre poli, fie b) ca urmare a unei pierderi de molecule de pe fibre în matricea citoplasmatică, situaţie în care s-ar crea o stare de tensiune care *împinge* cromozomii spre poli. La mecanismele implicate în procesul de migrare a cromozomilor s-ar mai putea adăuga şi rolul jucat de *curenţii lichizi* ce s-ar forma între fibrele fusului şi care pot interveni ca factori suplimentari cu rol pasiv în transportul cromozomilor spre poli.

În regiunea ecuatorială, fibrele continue ale fusului sînt asociate cu o creştere a densităţii citoplasmei, formînd o structură densă, care poartă numele de *corp de mijloc (midbody)*.

Telofaza. Ultimul stadiu al mitozei, telofaza, este în multe privinţe inversul profazei. Cromozomii monocromatidici ajunşi la cei doi poli devin mai puţin denşi (aspect care poate fi atribuit pierderii fragmentelor nucleolonemale), se alungesc printr-un mecanism de despiralizare a lor (la baza căruia stă probabil un proces de hidratare) şi dispar ca entităţi vizibile. Cîteva zone din cro-

Scanned with OKEN Scanner

mozomi rămîn spiralizate şi ansamblul lor va constitui heterocromatina viitorului nucleu.

În această fază, *nucleolul* se reconstituie din segmentele de *nucleoloneme* care în timpul diviziunii erau asociate cu cromozomii şi care se asamblează în formaţiuni tipice la nivelul organizatorilor nucleolari. *Pars amorfa* reapare în jurul nucleolonemei şi nucleolul este în întregime reorganizat.

În stadiul final al telofazei, *membrana nucleară* fie că se formează din rămăşiţele membranei nucleare precedente, fie că este din nou sintetizată, se dispune în jurul nucleului nou format.

În momentul în care procesul de diviziune al nucleului ia sfîrşit, dintr-un nucleu rezultă doi nuclei care prezintă acelaşi număr de cromozomi ca şi celula parentală. Mitoza este deci tipul de diviziune care păstrează constant gradul de *ploidie*, în urma mitozei rezultînd descendenţi care au acelaşi număr de cromozomi ca şi celula parentală.

Nucleii rezultaţi la cei doi poli ai celulei seamănă cu cei ai celulelor din care s-au format, cu deosebirea că sînt mai mici. Ei cresc prin sintetizarea de material nuclear în timpul postcinezei.

Simultan cu organizarea nucleilor la cei doi poli ai celulei, se produce diviziunea citoplasmei sau *citokineza*. La celulele animale, ea are loc printr-un proces de strangulare ce apare la ecuatorul celulei. În această zonă se dezvoltă o constricţie care, avansînd progresiv, formează o depresiune ce încercuieşte celula ca o brazdă adîncă, denumită *brazdă de clivaj*. Adîncindu-se, ea despică celula în două jumătăţi.

În clivarea celulei, un rol important îl are hialoplasma periferică — *cortexul celular*. La periferia celulei pot fi remarcate trei procese: a) contracţia gelului cortical; b) formarea de mici vezicule din „corpul de mijloc"; c) mişcările active ale membranei celulare.

a) Contracţia gelului cortical pare să fie mecanismul cel mai activ. Imediat sub membrana celulară, la nivelul benzii de clivaj, s-ar acumula un material fibrilar cu proprietăţi contractile care pe măsură ce se contractă, adîncesc brazda de clivare care devine din ce în ce mai profundă.

b) Formarea micilor vezicule în zona corpului de mijloc se face pe seama materialului fibrilar. Ele par să fuzioneze şi sînt implicate în reconstituirea noii membrane celulare (F a w c e t t, 1959).

c) Mişcările membranei celulare de tip amiboid, implicate în procesul de clivare a celulei, au rolul de a favoriza separarea celulelor-fiice. Participarea acestei mişcări în diviziune este demonstrată prin experienţe care arată că inhibarea mişcărilor amiboide inhibă citokineza.

Importanţa fiecăruia dintre factorii implicaţi în procesul de clivare rămîne de aprofundat.

Organizarea citochimică a aparatului mitotic şi a cromozomilor în diviziune. Studiile biochimice şi citochimice asupra *fibrelor fusului* izolate din ouăle de arici de mare, aflate în stadiul de metafază, arată că principalele lor componente sînt proteinele sărace în aminoacizi aromatici, asemănătoare cu actina. Electroforetic, ele sînt relativ omogene şi prezintă o proporţie de circa 12% din totalul proteinelor celulare.

Scanned with OKEN Scanner

Întrucît nucleul este incapabil să elaboreze o asemenea cantitate de proteine, autorii au căzut de acord că proteinele din care se organizează fibrele fusului sînt de origine citoplasmatică. Proteinele fusului sînt bogate în grupe — SH, capabile să formeze legături —S—S— în prezenţa glutationului.

Prezenţa grupelor sulfhidril în mitoză a fost demonstrată citochimic cu reactiv Bennett care dă reacţie pozitivă în tot timpul mitozei, începînd cu profaza şi pînă în telofază.

În afară de proteine, cercetări citochimice au arătat că aparatul mitotic mai conţine ARN în proporţie de 5—6% şi o cantitate mică de lipide. Fibrele sînt PAS pozitive, în timp ce centriolii au o reacţie PAS negativă, de unde s-a tras concluzia că fibrele fustului conţin muco- şi glicoproteine care lipsesc la nivelul centriolilor. Dintre enzime, aparatul mitotic conţine ATP-ază.

Studiile bio- şi citochimice asupra *cromozomilor* în metafază arată că ei reprezintă un sfert din masa carioplasmei, ceea ce a dus la concluzia că în metafază cromozomii pierd apa şi o parte din proteinele nucleare. Pierderea proteinelor este compensată de acumularea materialului nucleolar, responsabil de creşterea bazofiliei cromozomilor metafazici. În telofoză, cromozomii se hidratează şi pierd materialul nucleolar. Aceste modificări în compoziţia chimică a cromozomilor alături de modificările în spiralizare par să fie responsabile de condensare, contracţia şi încolăcirea lor în profază şi dispersia, alungirea şi descolăcirea lor în telofază.

ULTRASTRUCTURA CELULEI IN DIVIZIUNE

Membrana nucleară. În profază, invariabil la toate tipurile de celule, membrana nucleară prezintă numeroase neregularităţi, în special în zonele adiacente radiaţiilor astrale. Fibrele astrale în contact cu membrana nucleară produc invaginări ale membranei destul de profunde, iar ca urmare, spaţiul intermembranos al membranei nucleare devine neregulat, cu aspect de mătănii. La nivelul acestor invaginări, membrana exterioară şi interioară a învelişului nuclear fuzionează şi formează pe alocuri *vezicule* de diferite mărimi, care migrează fie în citoplasma din jur, fie în nucleoplasmă. În spermatocite, în profază, s-au observat contacte directe ale membranei nucleare cu mitocondriile care se aglomerează în jurul ei, iar matricea mitocondrială pare să ia contact direct cu nucleoplasma, sugerînd implicarea mitocondriilor în dezagregarea membranei nucleare. Indiferent de modalităţi, rezultatul final al procesului de dezagregare a membranei nucleare este acelaşi: formarea de mici vezicule asemănătoare reticulului endoplasmic agranular.

Ultrastructura aparatului mitotic. Am văzut că în interfază centriolii sînt situaţi în vecinătatea nucleului, într-o regiune a citoplasmei care are un aspect fin granular şi care este lipsită de organite celulare (vezi centiolul). În această regiune se pot observa cîteva formaţiuni fibrilare fine de 150—200 Å, cu o structură tubulară — microtubuli. O dată cu separarea şi migrarea cen-

Scanned with OKEN Scanner

triolilor spre polii celulei, microtubulii cresc ca număr, iar cînd membrana nucleară se dezintegrează, ei invadează nucleoplasma şi formează fusul de diviziune (fig. 68). Peretele lor pare să fie format din 13 subunităţi numite protofibrile, asemănătoare cu cele întîlnite în structura cililor. La polii celulei, relaţiile microtubulilor cu centriolii par să fie de contiguitate (relaţii asemănătoare cu cele dintre centrioli şi cili).

Între microtubuli, în zona intermediară a fusului, se pot observa numeroase vezicule endoplasmice agranulare (de mărimi şi forme diferite) şi ribozomi. La periferia fusului se găsesc cisterne care provin din reticulul endoplasmic rugos, dispuse paralel cu fusul.

Cromozomii celulei în diviziune apar ca formaţiuni bine individualizate, cu diametrul cuprins între 10 000 şi 30 000 Å a căror structură fină nu a putut fi încă lămurită.

Centromerul la microscopul electronic apare ca o formaţiune în formă de placă, cu grosime de 500 A şi un diametru de 1 500 A. În circumstanţe favorabile s-a observat că plăcile sînt formate din filamente de 100 Å, care par să se continue cu cele ale cromozomilor. Microtubulii fusului se unesc cu latura dinafara plăcii, fără să existe însă dovada unei joncţiuni precise.

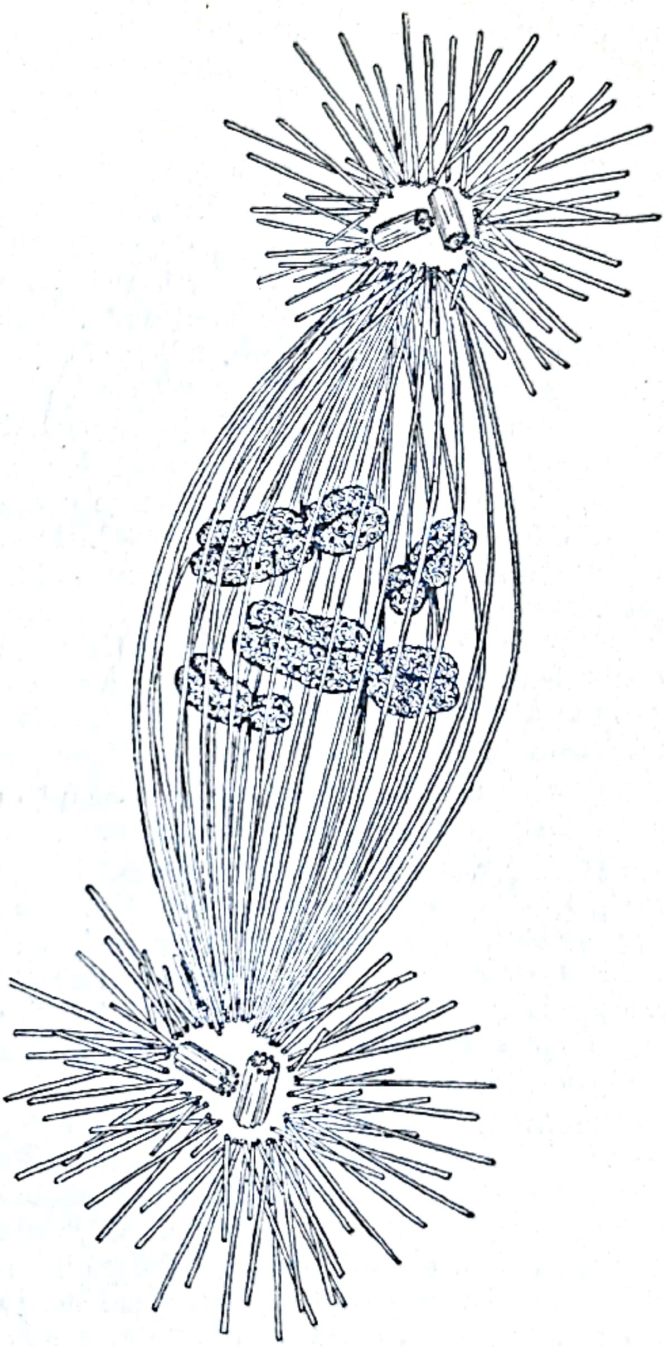


Fig. 68. Ultrastructura aparatului mitotic şi a cromozomilor în metafază (DuPraw).

În ceea ce priveşte *cauza determinantă* a mitozei rămîne o problema deschisă. Dintre factorii implicaţi în declanşarea mitozei amintim: modificarea raportului nucleoplasmatic, manifestat printr-un exces de citoplasmă, care ar duce la o neconcordanţă între citoplasma în exces care solicită mai mult material informativ şi nucleu, care nu mai poate face faţă elaborării de material necesar (ARN nu mai este sintetizat la nivelul nucleului interfazic

Scanned with OKEN Scanner

în timpul duplicării ADN). Cum furnizorul de ARN (materialul informativ) este nucleolul, declanşarea diviziunii în ultimă instanţă rezidă din incapacitatea nucleolului de a furniza materialul informativ necesar pentru procesele metabolice celulare.

Corelată cu factorii care reglează organismul, mitoza pare să fie dirijată şi de factori de ordin general. Ea este dependentă de acţiunea unor hormoni (pituitari, tiroidieni, ovarieni), de unele vitamine, de variaţiile metabolismului general (denutriţia, temperatura), precum şi de factori fizico-chimici diferiţi.

La rîndul ei, mitoza influenţează metabolismul celular, imprimînd un repaus în activităţile celulare, îndeosebi în faza ei distributivă. Acest aspect a fost demonstrat prin observaţii care arată că acele structuri citoplasmatice care îndeplinesc anumite funcţii în celulă sînt inactivate în timpul cinezei.

Energia necesară pentru procesul de cineză în sine este depozitată înainte de diviziune sub formă de ATP care poate fi hidrolizat de ATP-aza aparatului mitotic (H a r t m a n n, 1964). După mitoză, celulele pot fie să se diferenţieze, fie să intre într-un nou ciclu mitotic. În general, în cursul vieţii embrionare diviziunile celulare sînt rapide şi se derulează în mod continuu, în timp ce după naştere, ritmul diviziunilor diminuează consistent şi în ţesuturile foarte diferenţiate celulele pierd complet capacitatea de a se diviza. Ţesuturile adulte în care numărul mitozelor rămîne în permanenţă crescut sînt reprezentate de epiteliul tractului digestiv şi măduva osoasă hematogenă.

În cazul unor stimulări ale procesului de creştere celulară, numărul mitozelor poate creşte şi la nivelul altor ţesuturi (tumorale).

În afară de mitoza tipică descrisă la nivelul ţesuturilor care au un indice de proliferare crescut, au putut fi observate şi *mitoze atipice*. Dintre mitozele atipice, amintim trei tipuri principale: *mitoze asimetrice*, în care există o repartiţie inegală a cromozomilor ce duce la formarea de nuclei inegali; *mitoze multipolare*, în care se formează mai multe fusuri, deci vor lua naştere mai mulţi nuclei şi *mitoze rudimentare*, în care cromozomii se dispersează fără nici o ordine în citoplasmă.

Durata mitozei măsurată la celulele în cultura de ţesut arată valori diferite, dependente de tipul de celulă, mediul de cultură şi de temperatură. În condiţii optime, la fibroblastele de şobolan, mitoza durează circa 1 oră, dar durata celor patru faze este diferită. Profaza durează 30 minute, metafaza 8 minute, anafaza 4 minute, iar telofaza 18 minute. Din aceste exemple şi încă multe altele reiese că timpul cel mai lung din mitoză este afectat profazei şi cel mai scurt anafazei.

Efecte ale unor substanţe asupra mitozei. Întrucît cariokineza este un proces esenţial pentru dezvoltarea şi conservarea individului, orice perturbare în desfăşurarea lui produce perturbări care au repercusiuni grave asupra diviziunii în sine. Dintre substanţele chimice care au un efect specific asupra mitozelor, unele poartă denumirea de „otrăvuri mitotice".

Într-o sistematizare recentă, ele au fost împărţite în trei categorii:

1. Substanţe care acţionează în interfază asupra duplicării ADN (cortizon, adrenalină, diaminoacridin-monoaminoacridin, nitrogen, derivaţii quinonei).

2. Substanţe care au acţiune asupra cromozomilor (radiaţii ionizante, iperită cofeină).

3. Substanţe care au acţiune asupra aparatului mitotic (colchicina, podofilina, vincalemoplastinul).

Fiecare din factorii amintiţi acţionează la nivel molecular, împiedicînd într-un fel sau altul derularea normală a proceselor de diviziune. Celulele supuse unor astfel de influenţe, atîta timp cît sînt în afara ciclului mitotic, nu suferă nici o modificare în sens patologic, în schimb cele care sînt angajate în ciclul mitotic prezintă severe leziuni ale cromozomilor sau aparatului mitotic, ce împiedică celula să-şi completeze diviziunea. Aceste observaţii stau la baza folosirii unora din aceste substanţe în chimioterapia cancerului, „otrăvurile mitotice" împiedicînd celulele canceroase să-şi continue ciclul mitotic început. Întrucît organismul are un turnover al populaţiei celulare, care în mod normal este mare în anumite ţesuturi (măduvă, tub digestiv), efectul acestor substanţe se răsfrînge şi asupra celulelor care în mod fiziologic şi necesar se divid şi care implicit vor fi şi ele afectate.

AMITOZA

Reprezintă o variantă a diviziunii celulare în care se produce diviziunea directă a nucleului, fără evidenţierea structurilor filamentoase, respectiv a cromozomilor. După aspectul pe care îl ia nucleul în amitoză, au fost deosebite două tipuri de amitoză: prin „strangulare" şi prin „clivaj". La tipul de amitoză prin *strangulare*, materialul nuclear se adună în două zone opuse ale nucleului şi nucleul ia o formă alungită. Ulterior, ambele zone se depărtează în direcţii opuse, legate iniţial printr-o punte de material de conecţiune, care dă nucleului un aspect de halteră (figura 69). În cele din urmă, el se divide în două părţi egale, dintr-un nucleu rezultînd doi nuclei. Diviziunea nucleului este concomitent însoţită de diviziunea citoplasmei. Acest tip de amitoză este comun organismelor inferioare.

Amitoza prin *clivare* sau disecare prezintă o fisurare a nucleului în linie dreaptă, fie pe axul longitudinal, fie pe axul vertical al lui. Acest tip de amitoză este frecvent întîlnit la organismele superioare. La celulele mamiferelor, această variantă a amitozei este precedată de *diviziunea nucleolului* (semnalizator de amitoză). Fragmentele de nucleol se dispun în poziţie opusă şi concomitent apare o zonă luminoasă în centrul nucleului, situată între cei doi nucleoli, care se aseamănă cu brazda de clivaj din citokineză şi care, avansînd, divide nucleul în două părţi egale.

În ceea ce priveşte mecanismul care stă la baza amitozei, acesta nu se cunoaşte. Deşi nu au fost aduse dovezi că înainte de clivarea amitotică a nucleilor aceştia prezentau cromozomi, se crede că nucleiii care sînt divizaţi amitotic sînt *poliploizi*. Sub acest aspect, amitoza este o formă particulară a mitozei, care are drept scop restabilirea ploidiei nucleare. În acest sens s-a arătat că

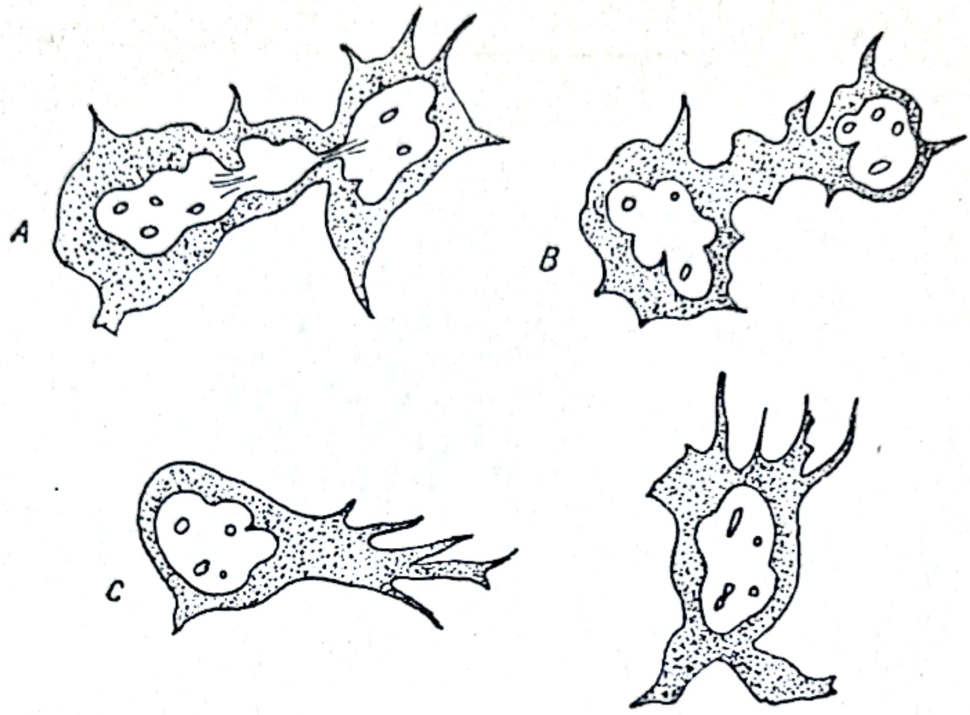


Fig. 69. Diviziunea directă:
a — alungirea nucleului; b — segmentarea nucleului; c — formarea celulelor-fiice.

există o relaţie strînsă între diviziunea nucleară amitotică şi poliploidizarea nucleilor. Acest aspect este întîlnit în special la nivelul ficatului, unde la nou născuţi nucleii sînt diploizi, iar după naştere, o dată cu stimularea funcţiei, apare poliploidizarea. Ea pare să fie restabilită prin amitoză.

Nucleii care rezultă din amitoză conţin întregul genom, deci amitoza în sens genetic este asemănătoare cu mitoza. În favoarea acestei ipoteze au fost aduse dovezi care arată că ADN, principala substanţă din materialul genetic măsurat histofotometric, arată valori egale la nucleii proveniţi din mitoză şi cei din amitoză (P f e i f e r, 1963).

În condiţiile în care amitoza produce noi descendenţi unicelulari, ea poate fi încadrată în procesul general al creşterii tisulare (amitoza regenerativă). Ea poate semnala însă şi un aspect al unei lezări (amitoza degenerativă), sau o consecinţă a creşterii metabolismului. Acest ultim aspect caracterizează amitoza apărută ca o reacţie a nucleului la un efort funcţional.

Incitarea stimulării funcţiei hepatice prin anumite substanţe toxice sau agenţi carcinogenetici duce la poliploidie şi indirect creează condiţii favorabile pentru diviziunea nucleară amitotică.

În numeroase cazuri, după amitoză, nucleii generaţi direct rămîn în acelaşi corp celular o lungă perioadă de timp, ducînd la apariţia celulelor hepatice *binucleate*.

Forme de amitoză. Există trei tipuri principale de amitoză: exoamitoza, endoamitoza şi carionomia.

Scanned with OKEN Scanner

Exoamitoza este tipul în care citoplasma se divide la interval scurt după diviziunea nucleului.

Endoamitoza constă din segregarea unor muguri proveniţi din nuclei într-o porţiune de citoplasmă şi eliminarea lor în afara celulei, aspect ce apare în special în celulele cultivate în vitro.

Carionomia sau meroamitoza, se referă la tipul de amitoză în care nucleul se divide în mici fragmente ce nu sînt eliminate în afara celulei, ci rămîn în citoplasmă, pînă la un moment dat, cînd vor fi împinse în afară, dînd naştere unor noi celule. Acest tip de diviziune pare să fie implicat în diferenţierea celulelor pancreasului endocrin din cele ale pancreasului exocrin (P i c a r d, 1936), sau în diferenţierea limfocitelor timusului din celulele reticulare (T ö r ő 1962).

MEIOZA

Pentru a împiedica creşterea ploidiei celulelor organismului, celulele seriei germinale a celor două sexe care fuzionează pentru a forma zigotul sau capul de linie al noului organism pluricelular se supun unui tip special de diviziune, denumită *meioză*, care reduce numărul seturilor diploide de cromozomi (2n) la un singur set haploid (n). Meioza este deci tipul de diviziune indirectă care are ca scop divizarea gametocitelor în aşa fel încît gameţii care rezultă din diviziune să primească numai cîte o garnitură, respectiv numai cîte unul din cromozomii omologi parentali (fig. 70).

Ca şi ciclul mitotic, meioza comportă două stadii distincte: stadiul preparativ al diviziunii (interfaza) şi stadiul distributiv (meioza propriu-zisă).

Stadiul preparativ se remarcă printr-o creştere de volum a nucleului, atribuită unei acumulări de apă din citoplasmă ce pare să condiţioneze mişcările cromozomilor în timpul meiozei. Concomitent cu schimbările observate în sucul nuclear, s-au observat modificări şi în compoziţia chimică a cromatinei nucleare. Studiile biochimice asupra biosintezei ADN în timpul cariokinezei meiotice demonstrează că ADN-cromozomial nu este dublat în interfază, cum se întîmplă în mitoză, ci chiar la începutul profazei meiotice.

Stadiul distributiv. În vederea împărţirii materialului cromatinian cu caracter definitiv în celulele sexuale, meioza prezintă două diviziuni succesive, avînd deci cîte două profaze, metafaze, anafaze şi telofaze. În timp ce prima diviziune a nucleului este reducţională, cea de-a doua diviziune este ecuaţională.

Profaza primară. Profaza primei diviziuni meiotice este lungită şi complicată faţă de profaza mitozei (fig. 70). Printr-o sistematizare făcută de W i l s o n (1923) a fost convenţional subdivizată în următoarele faze: leptonema, zygonema, pachinema, diplonema şi diakinezis.

Leptonema (leptos=subţire; nema=filament) este caracterizată prin creşterea volumului nuclear şi apariţia cromozomilor sub forma unor filamente lungi şi subţiri, abia vizibili. Este interesant de remarcat faptul că în

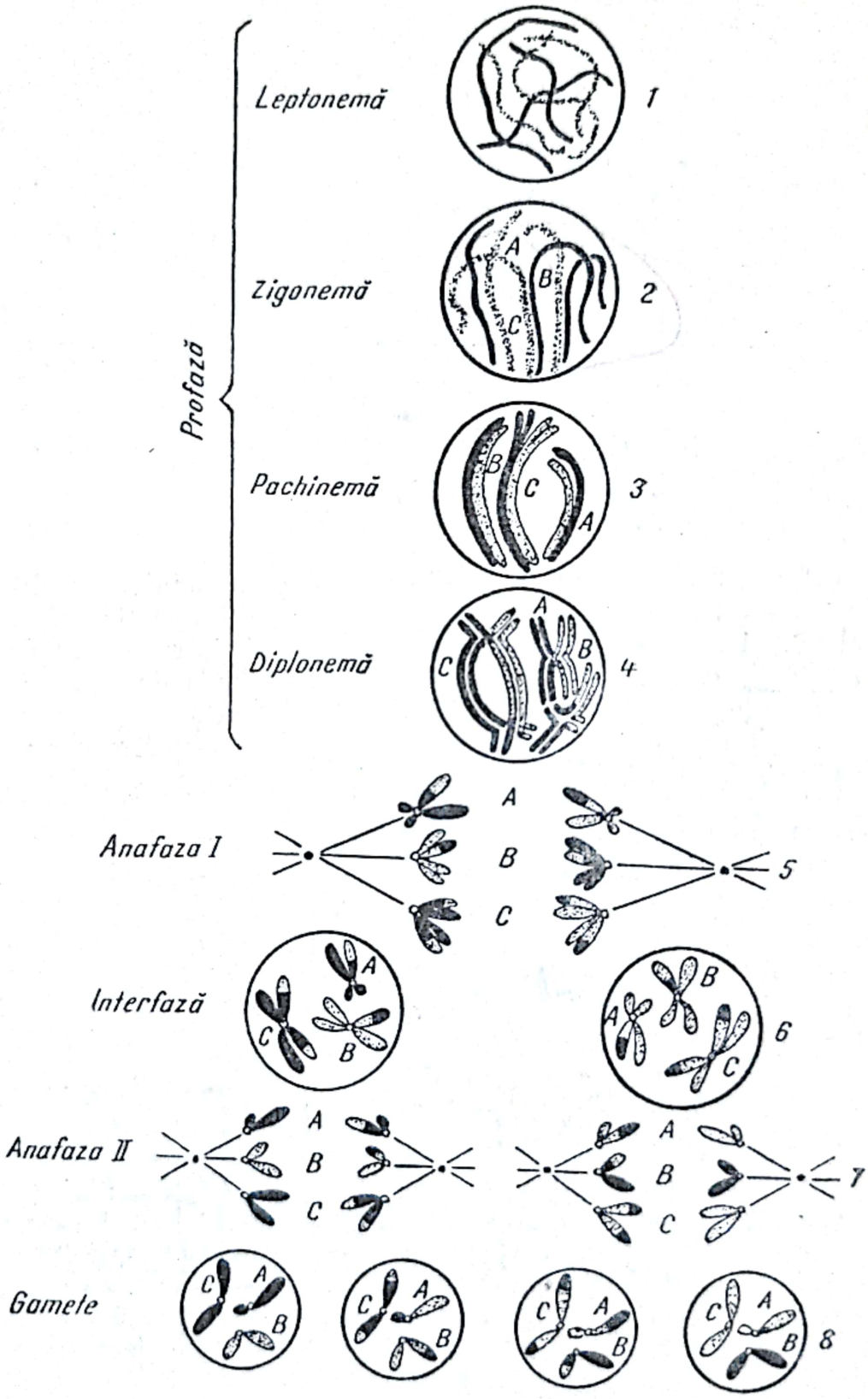


Fig. 70. Fazele meiozei (De Robertis).

această fază timpurie cromozomii sexuali apar ca nişte corpusculi bine individualizaţi.

Dacă pentru o lungă perioadă de timp au existat controverse în ceea ce priveşte organizarea bicromatidică a cromozomilor din leptonemă, dovezi recente par să demonstreze că replicarea ADN şi formarea celor două cromatide apar la începutul profazei. În stadiul timpuriu al leptonemei, cromozomii par să fie lipsiţi de spirale şi aranjaţi în rozetă, cu o extremitate spre membrana nucleară, iar cu cealaltă spre centrul nucleului. Într-un stadiu mai tardiv apar spiralizări distincte de-a lungul lor, care se evidenţiază sub forma unor zone mai dense şi mai puternic colorate numite *cromomere*.

Zygonema (zygos=unire) se caracterizează prin unirea cromozomilor omologi. Fie că împerecherea porneşte de la un capăt, fie că porneşte simultan din puncte diferite de-a lungul cromozomilor, cromozomii omologi se alătură punct cu punct şi în urma acestei împerecheri toate diferenţierile longitudinale (constricţiile primare, secundare, sateliţii, zonele heterocromatice sau cromomerele) se suprapun exact.

Mecanismul împerecherii ridică o problemă care nu a fost încă rezolvată. Au fost formulate mai multe ipoteze, dintre care cea mai verosimilă este teoria fizică în care cromozomii par să se atragă graţie unor diferenţe în încărcătura electrostatică de suprafaţă. Este posibil ca atracţia să aibă loc în două etape în prima etapă cromozomii iau contact din loc în loc, iar în a doua etapă, o dată stabilite asemenea contacte, procesul se întinde printr-un mecanism în fermoar de-a lungul întregii lungimi a cromozomilor, unind omologii punct cu punct. Ca un factor adjuvant intervine specificitatea de structură a nucleoproteinelor sau mai precis a genelor care se suprapun în aceleaşi puncte.

Pachinema (pachis=gros) începe o dată ce împerecherea cromozomilor este terminată. Cromozomii omologi uniţi poartă denumirea de *cromozomi bivalenţi* sau gemeni. Ei sînt mai scurţi şi mai groşi decît în stadiile anterioare (fig.). Ca urmare a scurtării şi îngroşării lor, bivalenţii nu mai au o formă filiformă cu conturul neted, ci de-a lungul lor apar nodozităţi colorate mai intens, alternînd cu zone mai luminoase (nodozităţile colorate mai puternic corespund cromomerelor). Datorită fuzionării omologilor în această fază, numărul cromozomilor este redus la jumătate, deci haploid, dar în realitate fiecare cromozom bivalent este alcătuit din cîte doi cromozomi omologi. Conţinînd patru cromatide, cromozomii bivalenţi mai poartă denumirea de *tetrade cromozomiale*. La un moment dat, într-un punct numit chiasmă, apare o despicătură transversală pe două cromatide omologe. La acest nivel, segmentele celor două cromatide se schimbă între ele şi se resudează în noua poziţie.

Numărul şi poziţia chiasmelor variază de la specie la specie. În general, cromozomii lungi au chiasme mai numeroase, iar cromozomii scurţi prezintă de obicei numai o singură chiasmă. Ca poziţie, chiasma poate fi localizată la capetele cromozomilor sau la nivelul altor puncte ale cromatidelor. Chiasma a fost descrisă pentru prima oară la începutul secolului de Janssens (1909), care a elaborat teoria că chiasma este expresia vizibilă a unui schimb între

Scanned with OKEN Scanner

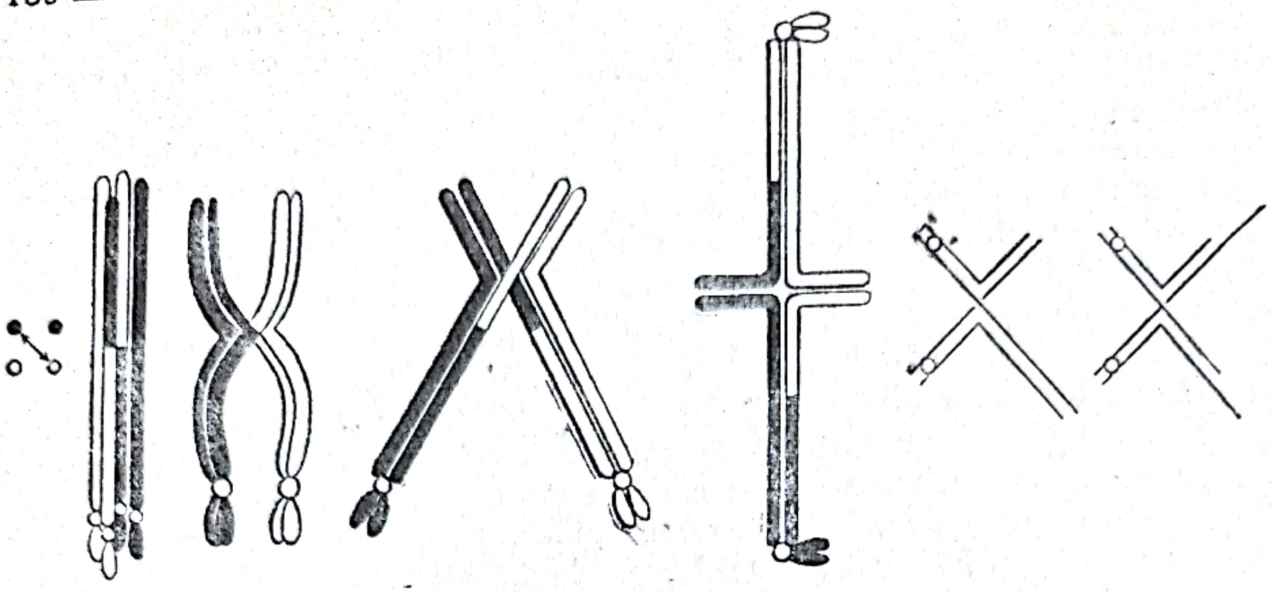


Fig. 71. Procesul „crossing over".

cromozomii omologi (fig. 71). Acest proces a fost descris ulterior sub numele de crossing-over, termen ce se referă la schimbul de material genetic dintre cromatide.

Subliniem deci că termenul de chiasmă se referă la manifestarea citologică a procesului de crossing-over, care în sens genetic are semnificaţia unor încrucişări reciproce de gene.

Diplonema (diplos=dublu). Caracteristic pentru această fază, atracţia dintre bivalenţi este înlocuită prin repulsie. Cromozomii omologi tind să se separe, dar prezintă dificultăţi, deoarece cromatidele cuplate aderă strîns la nivelul chiasmelor.

Diakinezis (dia=direcţie diferită; kinesis=mişcare). Bivalenţii mai scurţi şi mai groşi decît în stadiile precedente migrează spre periferia nucleului, iar chiasmele se reduc prin procese denumite „de terminalizare". Subliniem că ei rămîn asociaţi prin extremităţile lor, unde mai prezintă resturi de chiasmă nerezolvate.

La sfîrşitul profazei primare, nucleolul dispare, dispariţie care poate fi asociată cu creşterea bazofiliei cromozomilor, sugerînd că materialul nucleolar este încorporat în cromozomi. Membrana nucleară se dezintegrează şi ea, iar în citoplasmă începe să se formeze fusul de diviziune. Diakineza marchează sfîrşitul profazei meiotice.

Metafaza primară. În această fază, unităţile cromozomiale bivalente migrează către planul ecuatorial al fusului. Fibrele fusului şi cele cromozomiale sînt constituite, conectînd centromerii fiecărui cromozom din unităţile bivalente de polii celulei.

Anafaza primară. Începe cu repulsia activă şi depărtarea progresivă a celor doi cromozomi omologi din bivalent, spre polii opuşi ai celulei. În acest moment, chiasmele se rup definitiv. Bivalenţii sau tetradele sînt separate în felul acesta în cîte un cromozom care prezintă două cromatide care au fost denumite *diade*.

Scanned with OKEN Scanner

Cînd cromozomii se separă în anafază, compoziţia lor este diferită de aceea pe care o aveau la începutul diviziunii. Fiecare cromozom (diadă) va avea o cromatidă intactă şi una la nivelul căreia s-a produs un schimb reciproc de segmente cu omologul din perechea complementară. În felul acesta, fiecare nucleu nou format prezintă material genetic de la ambii părinţi, deci se produce un aranjament al genomului, fenomen important în ereditate.

Cromozomii care merg la polii celulei nu sînt identici cu omologii lor, datorită amestecării materialelor celor două cromatide în timpul cross-overului.

Telofaza primară cuprinde refacerea membranei nucleare în jurul cromozomilor care au un număr haploid.

La celulele nou formate după prima diviziune meiotică se instalează rapid interfaza, lipsită de refacerea nucleolului şi de dublarea ADN. Ea are o durată scurtă şi este urmată de a doua diviziune meiotică.

DIVIZIUNEA MEIOTICĂ SECUNDARĂ

Cea de-a doua diviziune meiotică se aseamănă cu mitoza (figura 72).

Profaza II este foarte scurtă. Membrana nucleară, dacă este formată, dispare, se formează fusul de diviziune, iar diadele constituite din cîte două cromatide unite la nivelul centromerului se îndreaptă spre periferia nucleului.

Metafaza II. În această fază, diadele rezultate din prima diviziune migrează către planul ecuatorial al celulei. Centromerii fiecărei cromatide se unesc cu polii opuşi ai celulei prin fibrele cromozomiale ale fusului.

Anafaza II cuprinde ca şi în cazul mitozei scindarea centromerilor, în urma căreia cromatidele separate din diade migrează spre cei doi poli ai celulei.

Telofaza II. Ajunse la cei doi poli, cromatidice se despiralizează, se hidratează şi iau forma caracteristică materialului cromatinian în interfază. Membrana nucleară se reface, nucleolul reapare şi se produce citokineza, asemănătoare cu cea din mitoză.

În concluzie, din prima diviziune meiotică rezultă două celule, fiecare din ele prezentînd jumătate din numărul de cromozomi prezent în celula parentală. Din cea de-a doua diviziune meiotică rezultă alte două celule, avînd fiecare jumătate de număr de cromozomi şi jumătate număr de cromatide, comparativ cu o diviziune mitotică somatică obişnuită.

Dacă net prima diviziune este reducţională, deci diferită de mitoză, cea de-a doua diviziune, foarte asemănătoare cu mitoza, nu este net ecuaţională, întrucît prin schimbul genetic dintre cromatidele cromozomilor omologi din timpul profazei meiotice primare rezultă cromatide-surori cu mesaj genetic diferit.

În concluzie se poate spune că meioza apare ca un mecanism biologic care asigură generaţiilor succesive de celule somatice constanţa numărului de cromozomi. În urma meiozei rezultă gameţii care au un număr haploid de cromozomi. Din fuziunea gameţilor în procesul de fertilizare rezultă oul (zigotul), care va prezenta un număr diploid de cromozomi.

Din diviziunea mitotică a zigotului rezultă celulele noului organism care rămîn diploide.

Scanned with OKEN Scanner

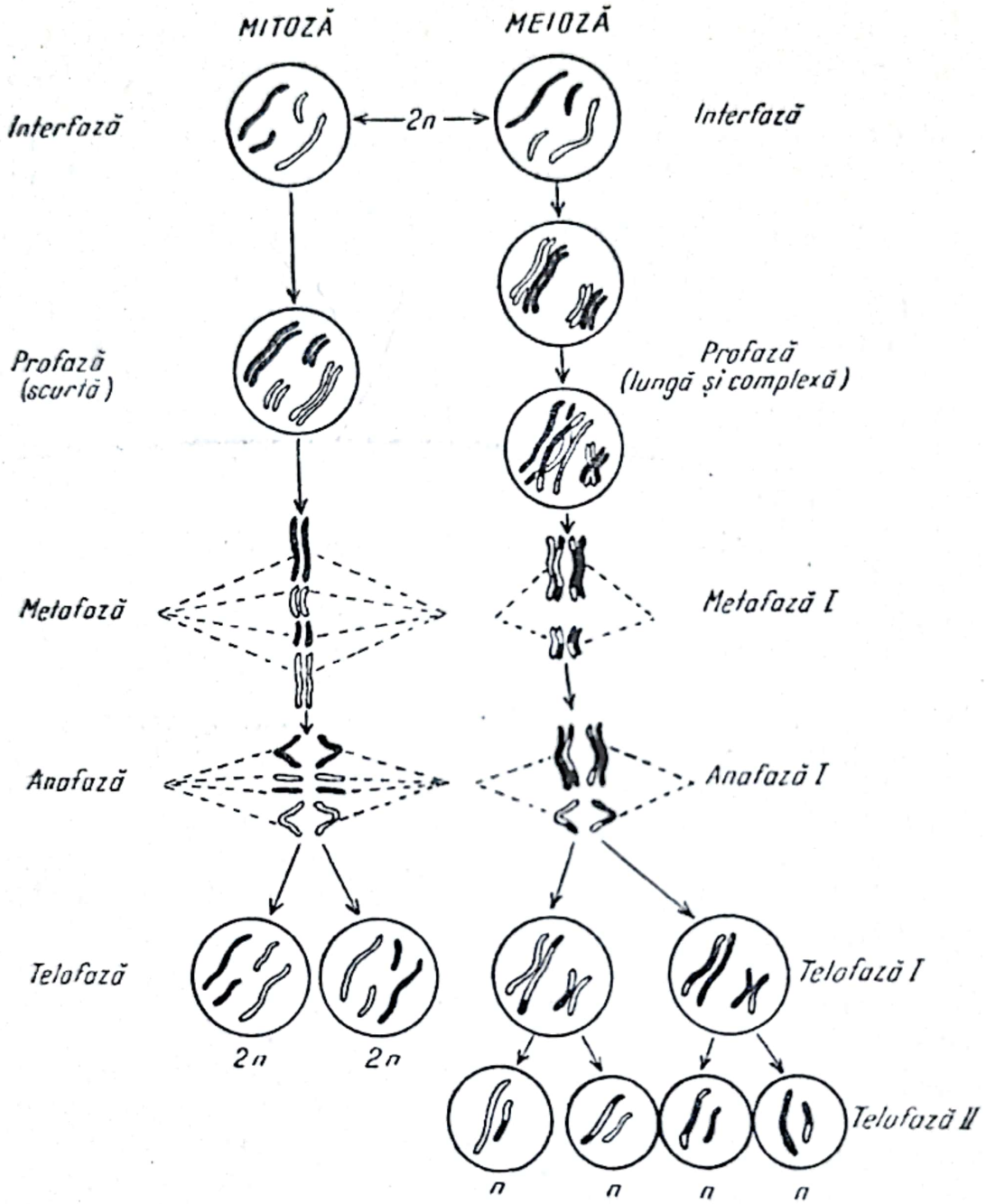


Fig. 72. Comparație între mitoză și meioză.

Pe de altă parte, datorită meiozei și fecundației, celulele embrionare conțin în egală măsură cromozomi materni și paterni. În acest fel, admițînd că cromozomii sînt purtătorii genelor transmițătoare ale mesajului genetic capabil de specificare biologică, se poate explica simplu rolul egal al celor doi părinți în transmiterea caracterelor ereditare.

Mecanismul intim de stimulare a procesului de meioză nu este încă cunoscut. Ea pare să depindă de intervenția unor substanțe chimice; în speță pare să fie sub influența unor *hormoni* hipofizari (gonadotropina A sau hormonul maturației foliculare). Alcalinitatea mediului, ca și prezența cîtorva ioni de calciu, par să fie factori indispensabili unei bune desfășurări a meiozei.

Scanned with OKEN Scanner

CREŞTEREA, DIFERENŢIEREA, IMBĂTRÎNIREA ŞI MOARTEA CELULEI

Procesul de *creştere* al celulei este strîns legat de procesul de diviziune. Analizat separat, procesul de creştere poate fi privit ca un proces de biosinteză pentru a cărui realizare sînt necesare unele condiţii. Dintre acestea, în primul rînd amintim necesitatea existenţei unei anumite energii libere care să permită realizarea procesului de biosinteză (prin energie liberă înţelegem acea energie care poate fi transformată în oricare altă formă de energie). Procesului de creştere îi sînt caracteristice următoarele fenomene: a) Descreşterea entropiei în cursul creşterii. b) Energia rezultată va fi utilizată în diverse direcţii metabolice, ca, de exemplu, în reproducerea DNA şi în sinteza proteinelor ribozomale. c) Inhibarea altor funcţii fiziologice majore, ca, de exemplu, reproducerea. d) Influenţa factorilor externi asupra intensităţii procesului de biosinteză. Datorită intervenţiei acestor factori externi, celulele similare nu se dezvoltă sincron.

DIFERENŢIEREA CELULARĂ

Orice organism adult indiferent de nivelul filogenetic prezintă o structură heterogenă. Heterogenitatea se observă şi între diferitele organe componente ale organismului. Astfel, inima, ficatul, sistemul nervos etc. prezintă la un examen microscopic o compoziţie celulară diversă, fiind alcătuite respectiv din celule musculare, hepatocite, neuroni, fiecare cu caracteristicile lor. Heterogenitatea se manifestă însă şi la nivelul organitelor celulare, cît şi la nivelul unor structuri intercelulare. Fenomenul de heterogenitate indiferent de struc-

tură la care ne referim poartă numele de *diferenţiere*. După cum s-a arătat, celulele diferenţiate sînt caracterizate prin proprietăţi morfologice şi funcţionale particulare, datorite caracterelor structurale şi enzimatice ale proteinelor lor specifice. Astfel, ceea ce caracterizează muşchiul este miozina, ceea ce caracterizează eritrocitul este hemoglobina etc. Procesul de diferenţiere celulară se datoreşte deci în principal sintezei de proteine structurale determinate de ADN ce comandă diferenţierea numai în prima perioadă a procesului şi de prezenţa ARN-ribozomal, de transfer şi mesager. Ulterior, asupra procesului de diferenţiere influenţează şi alţi factori, ca, de exemplu: factori externi, procese metabolice locale, inducţia şi represiunea enzimelor.

1. *Rolul factorilor externi.* Cercetările au arătat că pentru sinteza diferenţiată a proteinelor nu este suficientă numai prezenţa ARN, ci sînt necesare unele condiţii externe create de existenţa unor enzime specifice şi a unei energii (libere) indispensabilă procesului. În absenţa acestor condiţii, ARN rămîne inactiv, deşi el poate fi prezent în citoplasma celulei. Dacă factori coresponsabili sintezei proteinelor există dar nu în cantitate suficientă, sinteza conform tipului de cod a celulelor respective nu va avea loc. Dacă între timp intervin favorabil unele condiţii externe, poate intra în funcţiune un alt grup de gene active care vor dirija sinteza proteinelor într-o altă direcţie decît cea iniţială. Din aceste date reiese că pentru realizarea unei anumite diferenţieri sînt necesare nu numai o anumită cantitate de ARN, ci şi anumite condiţii externe specifice pentru fiecare tip de diferenţiere.

O serie de cercetări printre cele ale lui Jacob şi Monod făcute pe bacterii au arătat că suprimarea activităţii ADN-cromozomial duce la diminuarea accentuată a formării ARN. Conform concepţiei lui Jacob şi Monod rezultă că în celulă există gene reglatoare care, producînd represori, pot să menţină într-o stare de inactivitate genele structurale ce stau la baza diferenţierii.

2. *Rolul inducţiei enzimelor.* În ultimul timp s-a scos în evidenţă rolul pe care îl are în procesul de diferenţiere inducţia enzimelor. Prin inducţie se înţelege creşterea cantităţii de enzime ca răspuns la prezenţa crescută a substratului respectiv în mediu. Numeroase fapte au evidenţiat această adaptare enzimatică la vertebrate. Injectarea cu triptofan face să crească activitatea triptofan-pirolazei ficatului de 5—10 ori, adaosul de — glicerofosfat duce la o creştere a fosfatazei alcaline în fibroblastele din cultură. În mod similar se desfăşoară şi fenomenul invers, ca, de exemplu, adaosul de arginină scade enzima arginin-sintetazei.

3. *Rolul metabolismului.* Cercetările făcute au arătat că metabolismul influenţează diferenţierea, furnizînd aminoacizii şi nucleotizii necesari sintezei proteinelor. Astfel, ca să fie posibilă sinteza unei proteine de tip compus, trebuie să existe nucleotizii necesari ARN, aminoacizi necesari pentru formarea proteinei şi energia necesară producerii acestei sinteze. Dar toate acestea nu sînt de fapt altceva decît rezultatul metabolismului ce se desfăşoară la nivelul celulei.

Scanned with OKEN Scanner

Îmbătrînirea şi moartea celulei sînt alte două procese în viaţa celulei care se manifestă după o perioadă mai mult sau mai puţin lungă de activitate. Raportînd durata vieţii celulei la durata vieţii organismului, Bizozero a clasificat celulele în labile, stabile şi perpetue.

Celulele labile au o durată de viaţă scurtă, sînt rapid distruse (lizate sau descuamate) şi sînt înlocuite treptat prin alte celule tinere ale mucoaselor şi tegumentelor degenerează şi descuamează continuu şi sînt înlocuite de alte noi celule care iau naştere pe seama stratului generator al epiteliului respectiv. Globulele roşii din sînge de asemenea au o viaţă foarte scurtă, de 3—4 săptămîni, fiind înlocuite cu alte elemente care iau naştere prin procesul de hematopoeză. Alte exemple pot fi date pentru celulele seminale din testicul sau celulele ţesutului limfoid şi mieloid.

Celulele stabile sînt celule cu activitate mitotică intensă în perioada de creştere; la vîrsta adultă, această activitate diminuează fără ca ea să înceteze în totalitate. Sub influenţa unor factori fiziologici şi patologici, activitatea mitotică poate redeveni iarăşi foarte intensă, în unele celule ca cele conjunctive, glandulare, nevroglice şi musculare netede.

Celulele perpetue sînt cele care au în general o viaţă lungă, dar care sînt lipsite de capacitatea de multiplicare. De exemplu, celula nervoasă, celulele senzoriale, celula musculară striată.

În general, moartea celulei se produce în mai multe feluri, şi anume:

Prin necroză, cînd în celulă apar modificări însoţite de lichefierea protidelor sub acţiunea fermenţilor şi enzimelor intracelulare. De exemplu, în cazul celulelor epiteliale citoplasma şi nucleul îşi pierd aspectul lor normal, devin omogene, se disting din ce în ce mai greu una de alta, celula sfîrşeşte prin autoliza completă şi este expulzată sub formă de cadavru celular. Sub influenţa unor factori patologici necroza se poate produce prin coagularea coloizilor celulari.

Prin necrobioză, cînd moartea se produce progresiv. În celulă au loc alterări morfofiziologice nucleare şi citoplasmatice care duc la hipertrofia celulei şi în final la autoliza urmată de expulzie. Modificările ce au loc la nivelul nucleului îmbracă aspectul de *picnoză* (aglutinarea cromatinei într-una sau două mase cromatice intens colorabile); cariorexis (descompunerea cromatinei într-un număr de granule cromatice care se dispersează în citoplasmă în momentul dispariţiei membranei nucleare); şi *carioliza* (dizolvarea cromatinei în zona nucleară sau în citoplasmă).

Modificările citoplasmei sînt mai numeroase şi se manifestă prin tulburări metabolice prin exagerarea unui proces normal sau de derivarea acestui proces. Apar modificări de ordin biochimic, se produce o dezhidratare generală (sinerezis), care duce la creşterea numărului de legături între proteine. Respiraţia şi activitatea enzimatică sînt mult scăzute. Calciul se acumulează în ectoplasma celulei, permeabilitatea membranei este alterată şi în final, conţinutul enzimelor hidrolitice lizozomale creşte şi se revarsă în citoplasmă. Perturbările metabolice citoplasmatice sînt cunoscute sub denumirea de degene-

rescență; astfel: a) *Degenerescența grasă sau lipidică*, caracterizată prin apariția de grăsimi în interiorul citoplasmei în cantitate anormală. Se întîlnește în boli cronice, în tulburări de nutriție, în tulburări circulatorii, în intoxicații cu alcool etc. b) *Degenerescența amiloidă* este rezultatul acumulării de glicoproteide în citoplasmă; se manifestă la nivelul vaselor, mușchiilor netezi, splină, ficat, rinichi. c) *Degenerescența hialină*, în care citoplasma celulară apare omogenă translucidă cu aspect vitros și cu toate organitele celulare dispărute. d) *Degenerescența coloidă* dă citoplasmei un caracter omogen și o acidofilie pronunțată. e) Forme mai rare sînt date de *degenerescența calcară, uratică, pigmentară*. Oricare ar fi forma degenerativă a citoplasmei, rezultatul final este dispariția celulelor și înlocuirea lor cu altele noi.

Scanned with OKEN Scanner

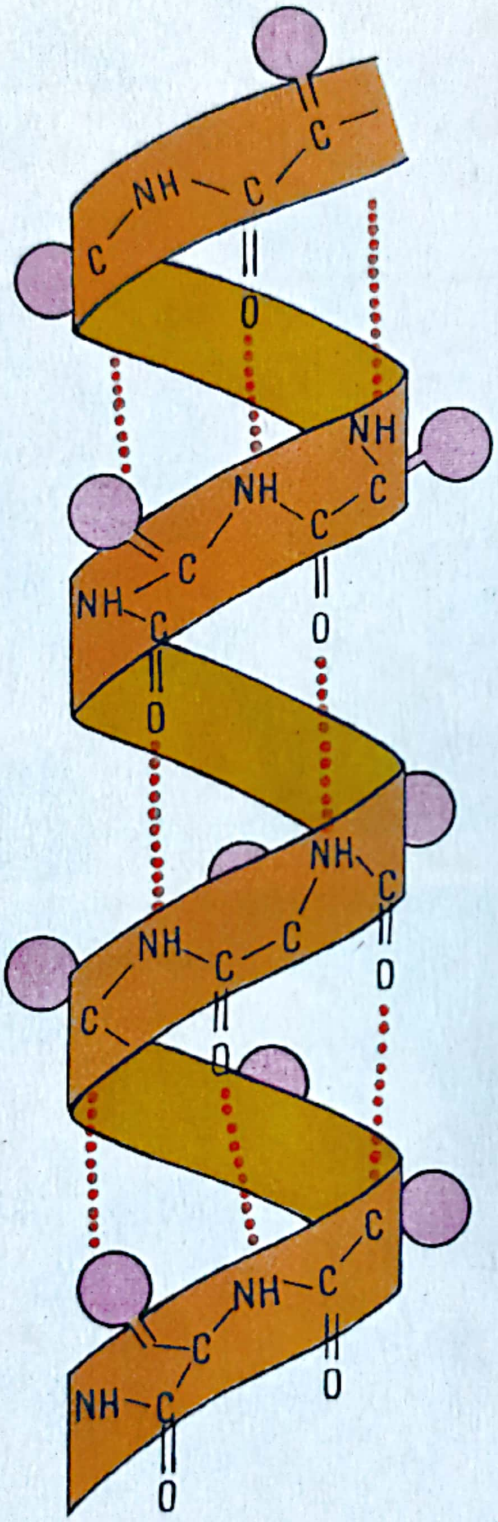


Fig. 1. Schemă a structurii secundare alfa-elicoidale a proteinelor.

Scanned with OKEN Scanner

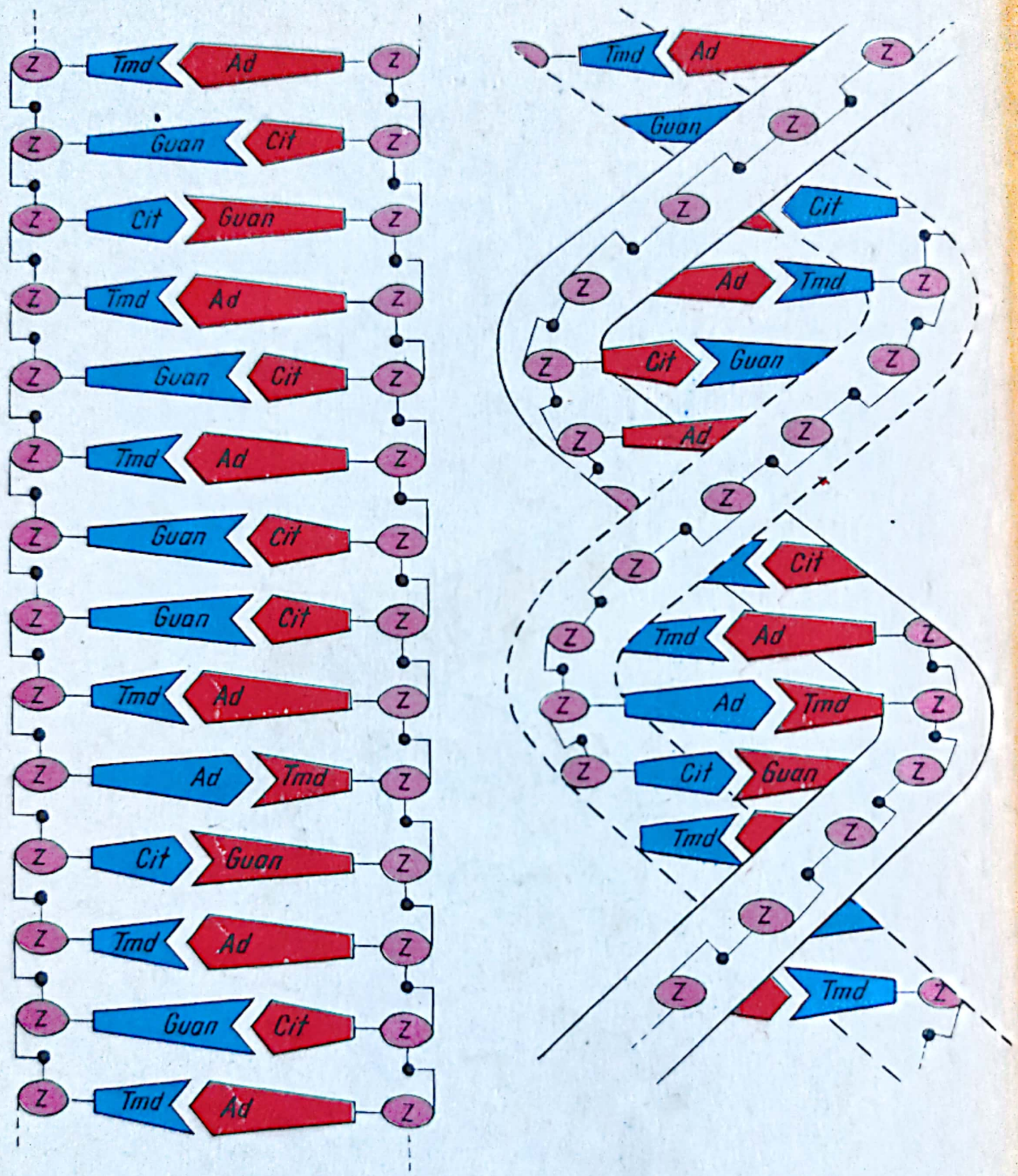
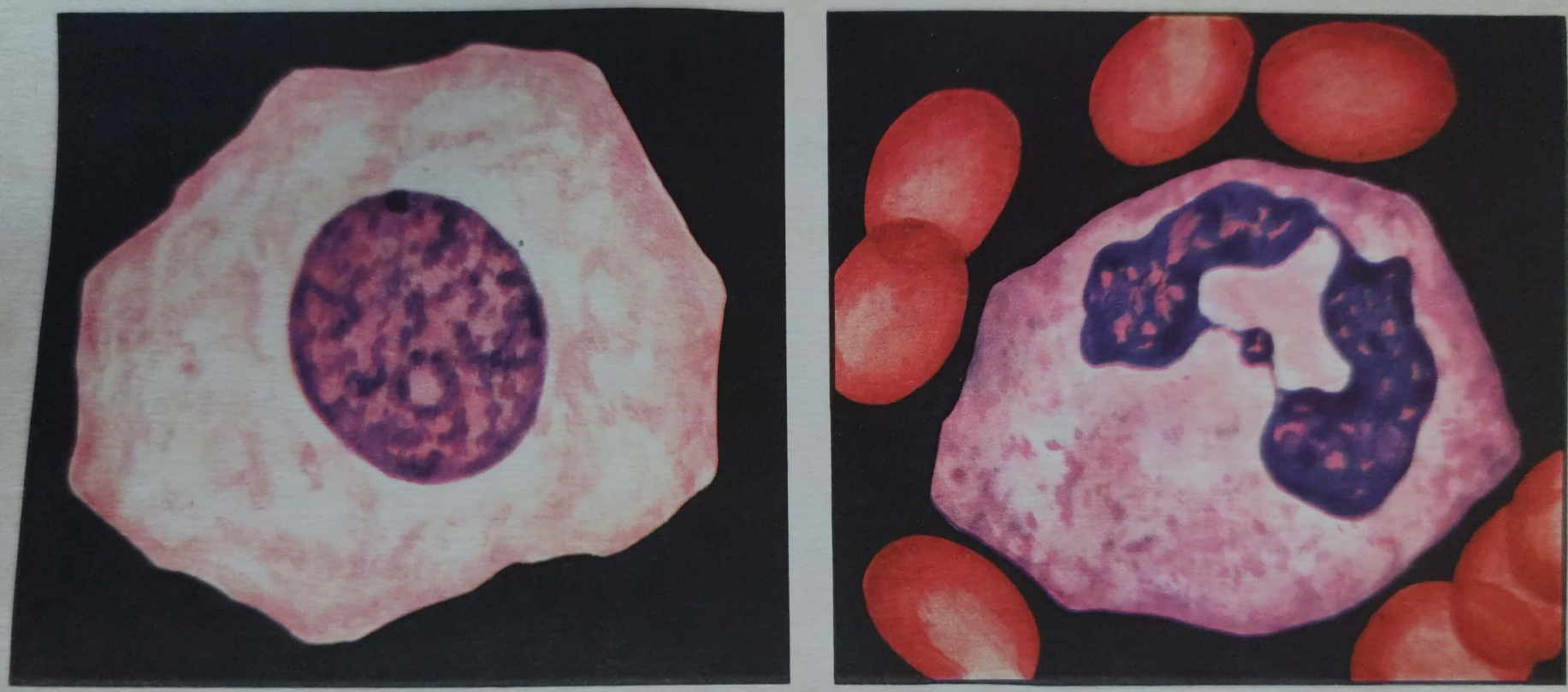


Fig. 2. Două exprimări schematice ale structurii unor porțiuni din moleculele de ADN (vezi textul).

Scanned with OKEN Scanner

PLANȘA II



a b

Fig. 3. Cromatină sexuală
a – celulă epitelială;
b – leucocit

Scanned with OKEN Scanner

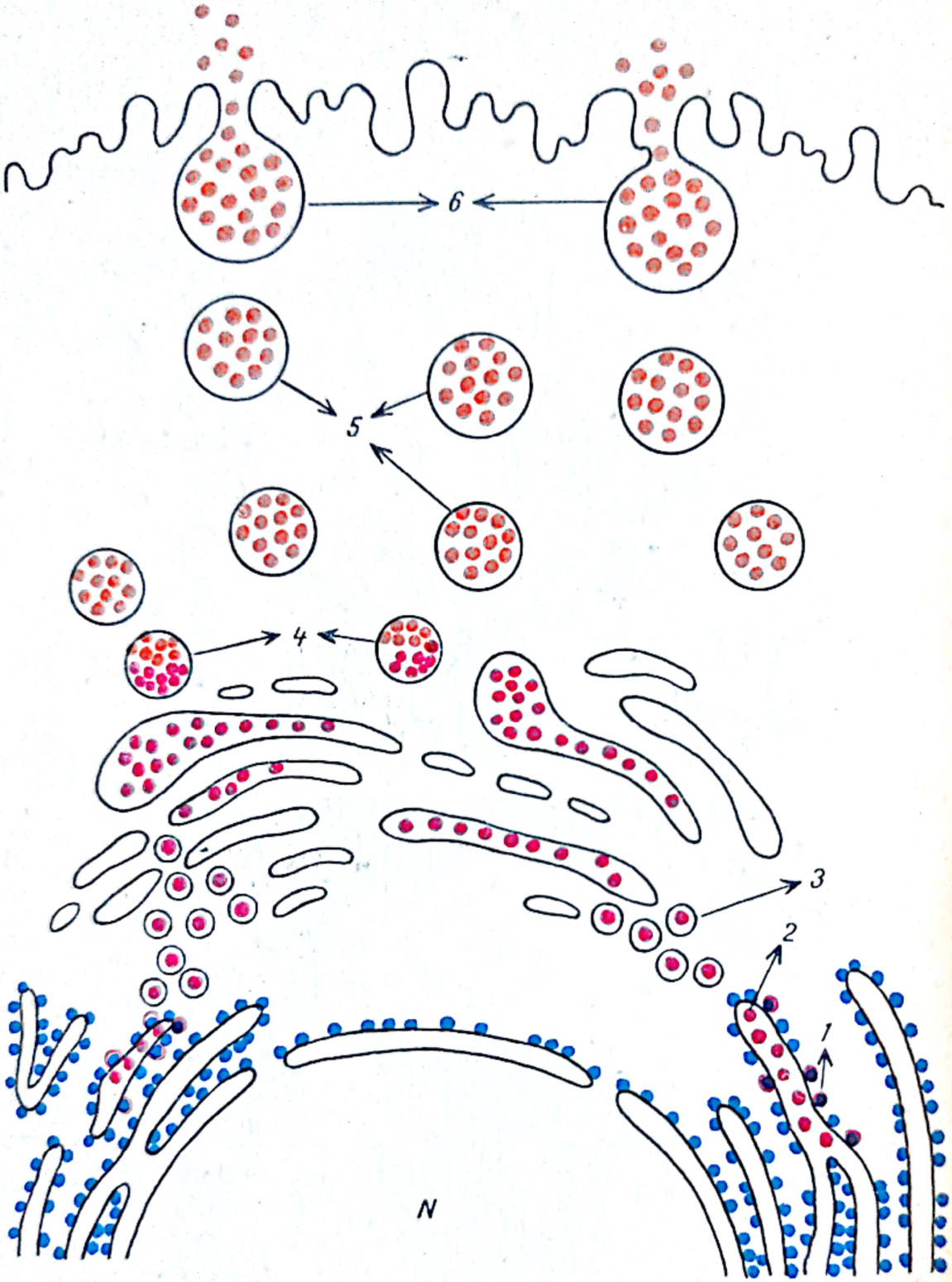
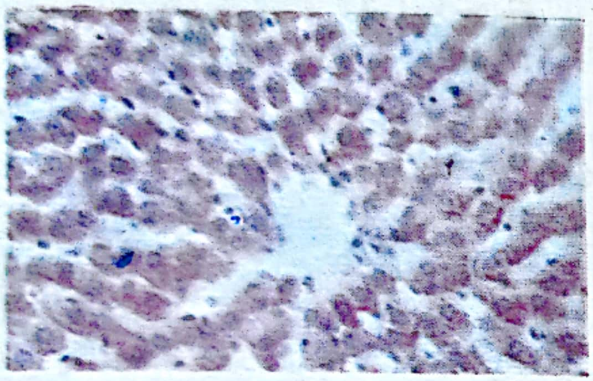
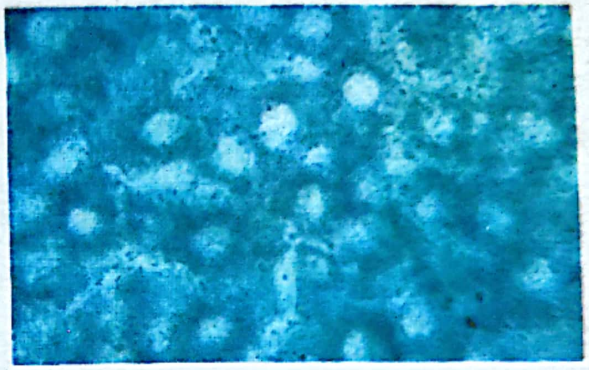


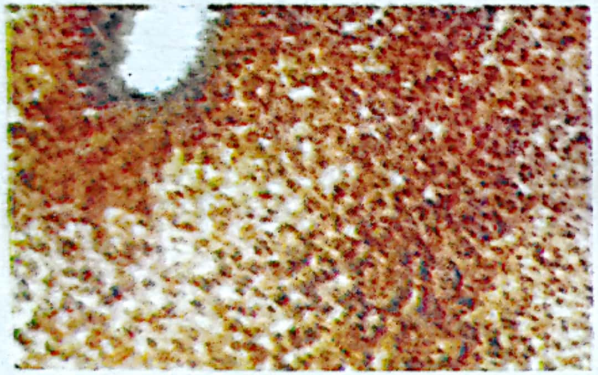
Fig. 4. Schema procesului secretor:

1 — sintetizarea proteinelor secretorii la nivelul ribozomilor atașați; *2* — transferul proteinelor de pe ribozomi în spațiul intracisternal al reticulului endoplasmic rugos; *3* — microvezicule Golgi; *4* — transportul proteinelor secretorii în vacuolele de condensare; *5* — transformarea vacuolelor golgiene în granule de zimogen; *6* — depozitarea temporar a acestor granule de zimogen în lumenul acinului glandular.

Scanned with OKEN Scanner







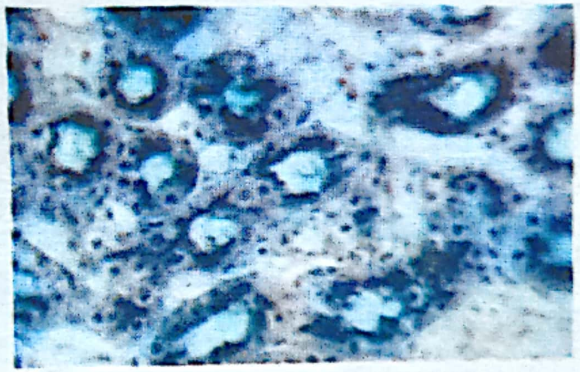


Fig. 5. a — Glicogen în celula hepatică;
b — succindehidrogenaza în hepatocit; c — lipaza în ficat; d — fosfataza alcalină în tubii renali.

PLANȘA III

Scanned with OKEN Scanner

PARTEA A DOUA

HISTOLOGIE GENERALĂ

Scanned with OKEN Scanner

ȚESUTUL EPITELIAL

Scanned with OKEN Scanner

Epiteliul este un ţesut celular, format din celulele contigui şi o substanţă interstiţială redusă.

Celulele sînt fie asemănătoare, fie diferite ca formă, mărime şi structură, dar toate conferă ţesutului funcţiile sale caracteristice.

Denumirea de epiteliu, dată de R u y s c h în secolul al XVIII-lea, trebuie interpretată ca „un ţesut ce creşte pe deasupra altui ţesut". În adevăr, epiteliul acoperă ţesutul conjunctiv, de la care primeşte substanţele nutritive, epiteliul fiind nevascularizat (cu mici excepţii ca de exemplu, stria vasculară din urechea internă); tot de la ţesutul conjunctiv primeşe terminaţii nervoase foarte bogate.

Între epiteliu şi ţesutul conjunctiv se interpune o *membrană bazală* care serveşte nu numai de suport pentru celulele epiteliale, ci datorită structurii sale chimice permite trecerea plasmei sanguine din ţesutul subjacent la epiteliu avascular.

Topografia. Ţesutul epitelial înveleşte suprafeţele libere: acoperă suprafaţa organismului formînd epidermul tegumentar, căptuşeşte cavităţile şi conductele diferitelor organe, constituie parenchimul glandelor exocrine şi endocrine. Unele epitelii s-au specializat în recepţia diverşilor stimuli, acestea sînt epiteliile senzoriale ale unor organe de simţ şi nu fac obiectul acestui capitol.

Histogeneza. Sursa formării ţesutului epitelial cu toate varietăţile lui se află în cele trei foiţe embrionare. De exemplu, din ectoblast se formează epiteliul tegumentar, din entoblast epiteliul de căptuşire a tubului digestiv şi a glandelor digestive, din foiţa mezoblastică, epiteliul vaselor sanguine şi al vaselor limfatice, numit *endoteliu*, precum şi epiteliul seroaselor: *mezoteliu*.

Ţesutul epitelial cu o aşa largă răspîndire în organism prezintă în diferitele sale localizări adaptări funcţionale care se reflectă în aspectele morfologice variate ale celulelor şi în arhitectonia epiteliului.

Ne vom ocupa de cele două mari grupe de epiteliu: epiteliu de înveliş şi epiteliu glandular.

EPITELIUL DE ÎNVELIŞ

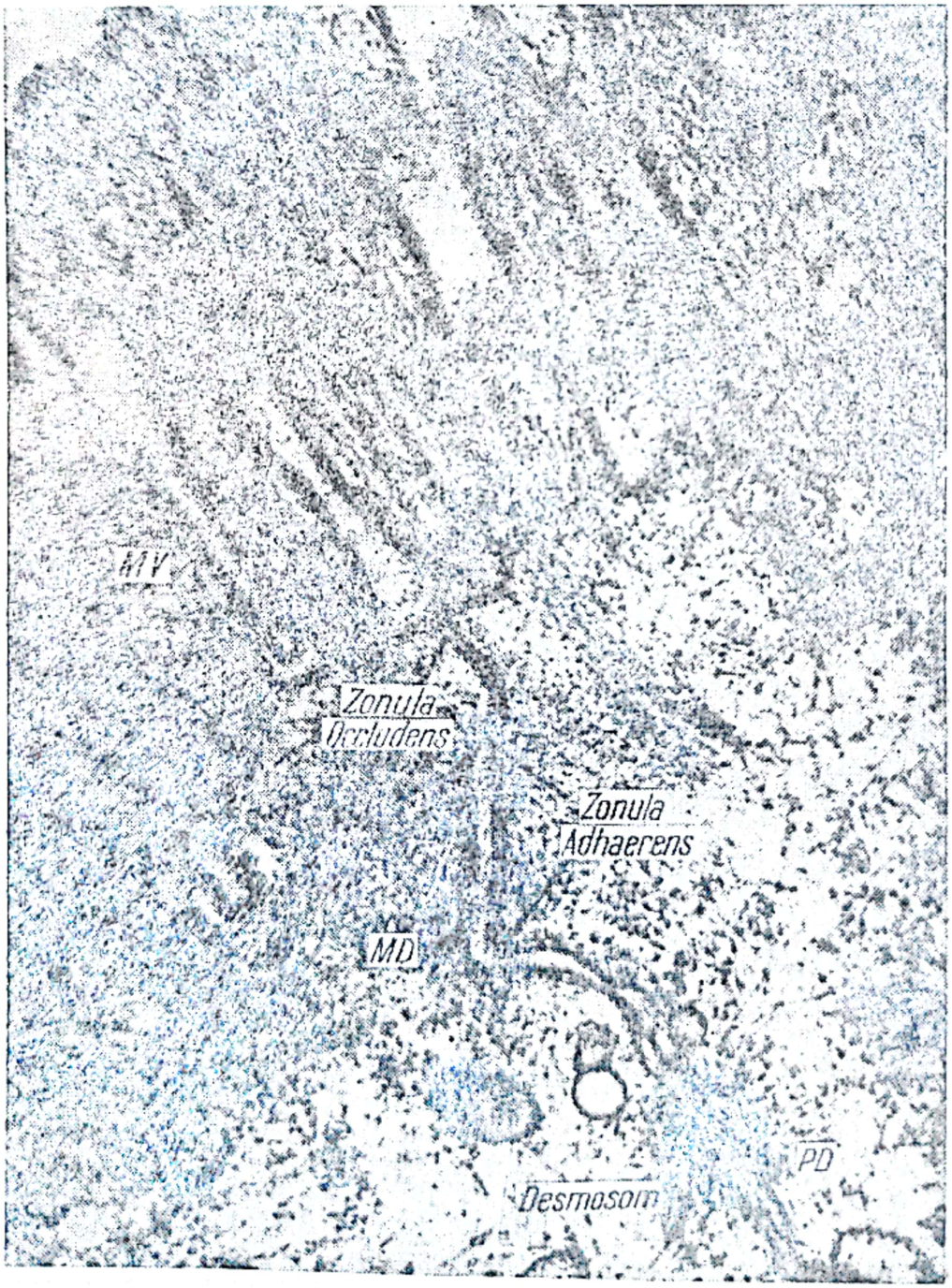
În structura acestui epiteliu, celulele pot avea aceeaşi înălţime, formă şi structură sau aceste caractere pot fi variate. De formă plată (pavimentoasă); cubică, prismatică sau cilindrică, celulele epiteliale aderă strîns între ele da-

torită viscozităţii substanţei intercelulare şi mai ales a interdigitaţiilor, a desmozomilor, a cadrelor de închidere şi a tonofibrilelor.

Interdigitaţiile sînt comune tuturor epiteliilor.

Desmozomii sînt mici plăci dispuse de-a lungul suprafeţelor laterale ale celulelor epiteliale; ei reprezintă structuri care asigură cea mai strînsă legătură între celule.

Fig. 73. Microfotografia electronică la nivelul complexului de joncţiune între două celule epiteliale din intestinul de şobolan:
MV — microvili; MD — material dens; PD — placă densă.



Scanned with OKEN Scanner

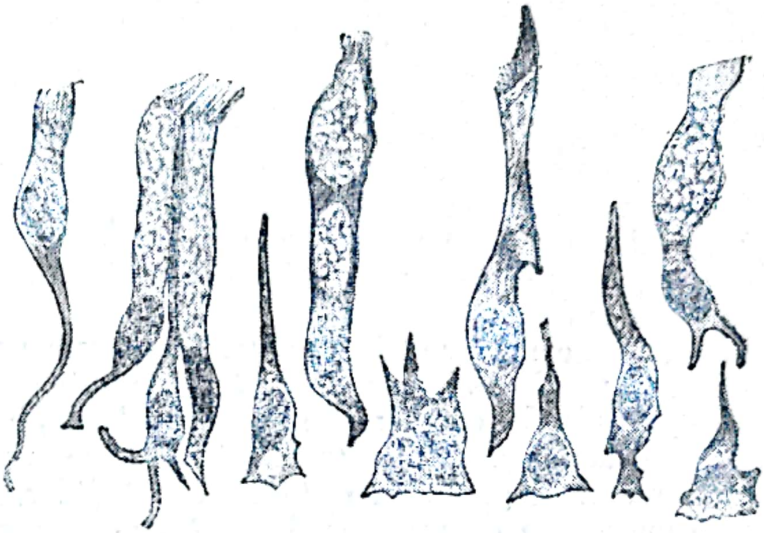


Fig. 74. Celule ciliate disociate di epiteliul traheal.

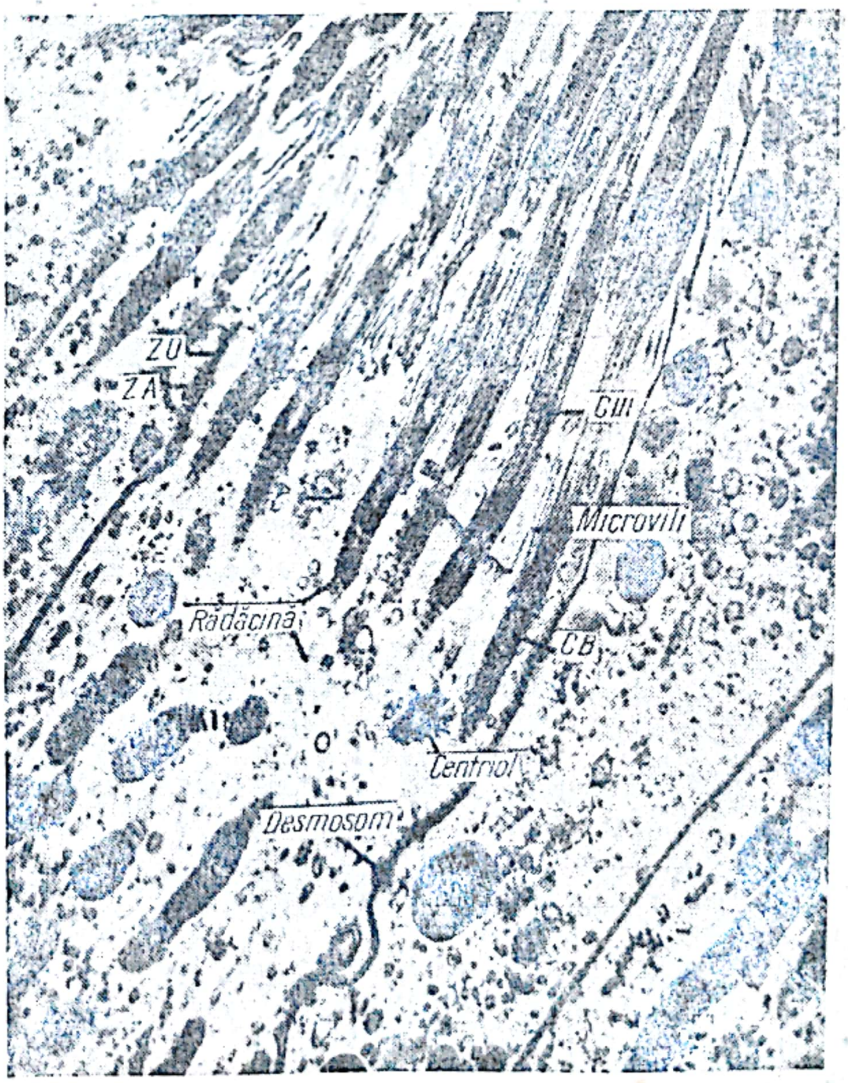


Fig. 74, a. Imaginea electronooptică. Secțiunea longitudinală prin porțiunea apicală a unei celule ciliate:

CB — corpuscul bazal; ZO — zona occludens; ZA — zona adherens.

Scanned with OKEN Scanner

Cadrele de închidere sînt vizibile şi la microscopul obişnuit datorită afinităţii lor pentru coloranţi. Ele apar în jurul suprafeţelor laterale ale celulelor, la joncţiunea lor apicală.

Microscopia electronică a arătat că au aceeaşi structură ca desmozomii şi că înconjură complet marginea apicală. În acest fel, aceste formaţiuni separă cele mai mici spaţii intercelulare de mediu înconjurător.

Spaţiul intercelular nu are acelaşi diametru, după cum au arătat Farquar şi Palade, deoarece membranele plasmale a două celule adiacente fuzionează la partea externă a cadrelor de închidere, formînd o zonă ocluzională — *zonula occludens*.

În rest, între membranele celulare se găseşte un spaţiu de 200 Å care ar reprezenta *zonula adherens* descrisă de autorii citaţi mai sus (fig. 73).

Tonofibrilele. În citoplasmă se găsesc filamente foarte fine (50 Å) care se dispun în fascicule, numite tonofibrile. Ele se inseră pe plăcuţele dense ale desmozomilor. Se găsesc în majoritatea epiteliilor, îndeosebi în cele care sînt supuse unor forţe de presiune. Natura lor este proteică — probabil o scleroproteină.

Substanţa intercelulară, care la unele epitelii simple se evidenţiază cu azotat de argint, este o substanţă vîscoasă, bogată în MPZ. Substanţa intercelulară scaldă toate celulele, constituind mediul lor de nutriţie, ea fiind în continuare cu substanţa fundamentală a ţesutului conjunctiv subiacent.

Celulele epiteliului de înveliş pot prezenta diferenţieri citoplasmatice la polul lor apical, ca, de exemplu, *microvili* care reprezintă plăcuţa striată a celulelor absorbante intestinale şi marginea în perie a celulelor absorbante din rinichi şi microvilii sinciţiului placentar. Alte diferenţieri sînt cilii: celulele ciliate (fig. 74) formează epiteliul căilor respiratorii, se mai găsesc în epiteliu ce căptuşeşte trompele uterine şi cavitatea uterină, numărul şi activitatea acestor celule fiind sub influenţa stimulilor hormonali.

Stereocilii sînt diferenţieri ale membranei apicale a celulelor din epiteliul canalelor genitale masculine (epididim).

Unele celule epiteliale sînt polarizate avînd diferenţieri şi la polul bazal ca, de exemplu, citomembranele S la nefrocit (fig. 74, *a*). Organitele celulelor polarizate au şi ele o dispoziţie polarizată.

CLASIFICAREA EPITELIULUI DE ACOPERIRE

1. **Epiteliul simplu** format dintr-un singur rînd de celule. După forma celulelor, distingem:

a) *epiteliul simplu pavimentos* format din celule plate a căror contururi se evidenţiază cu azotat de argint. Din acest grup fac parte endoteliile şi mezoteliile (fig. 75).

b) *Epiteliul simplu cubic* este format din celule asemănătoare cu diametrele egale (eczodiametrice). Este mai puţin răspîndit, constituind învelişul canalelor mici excretoare ale glandelor salivare.

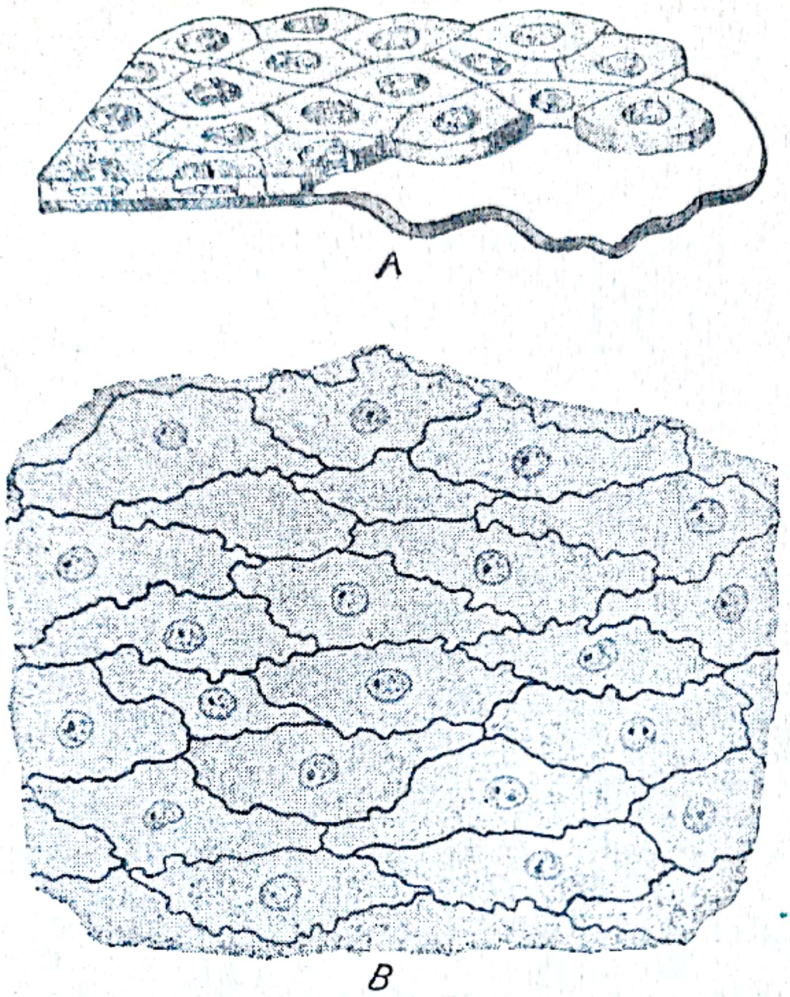


Fig. 75.
A — Epiteliu simplu pavimentos (schemă); B — limitele celulelor mezoteliale evidențiate prin impregnare argentică.

c) *Epiteliul simplu cilindric* (prismatic) este format din celule prismatice și are mai multe variante (fig. 76). Este țesutul epitelial secretor al organismului. El formează membranele epiteliale ale multor mucoase. Celulele prismatice stau pe o membrană bazală și prezintă diferențieri la polul lor apical (care au fost descrise la generalități). Printre aceste celule se găsesc uneori celule secretoare de mucus, adevărate glande unicelulare (de exemplu, în epiteliul mucoasei intestinale, în epiteliul mucoasei uterine).

Epiteliul simplu (monostratificat) are un rol important în transferul de substanțe, interpunîndu-se între mediul intern și lumenul organelor sau mediul extern. Organite nespecifice bogate sînt puse în evidență prin microscopia electronică, așa cum s-a arătat la capitolul *Citologie*, ca și o bogată baterie enzimatică evidențiată prin metode de histoenzimologie, lipide, glicogen (v. *Citologie*).

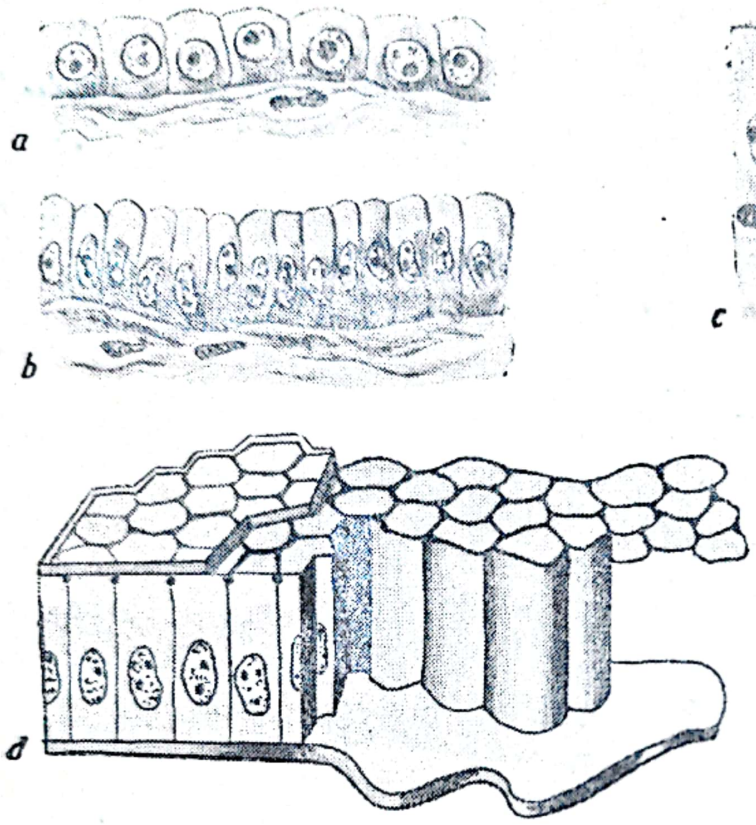


Fig. 76.
a — Epiteliu simplu cubic; b — epiteliu simplu prismatic; c — epiteliu cilindric cu plăcuţă striată; d — epiteliu simplu cilindric (schemă).

d) *Epiteliul pseudostratificat* este un epiteliu simplu în care celulele, de înălţimi diferite, se sprijină pe o membrană bazală, dar numai unele ajung pînă la suprafaţă şi acestea au o formă cilindrică; nefiind decît aparent stratificat, acest epiteliu este numit pseudostratificat. Celulele lui prezintă de obicei cili sau stereocili (fig. 77).

2. **Epiteliul stratificat** constă din două sau mai multe rînduri de celule, stratul superficial dînd denumirea epiteliului: pavimentos, cuboid, sau clindric.

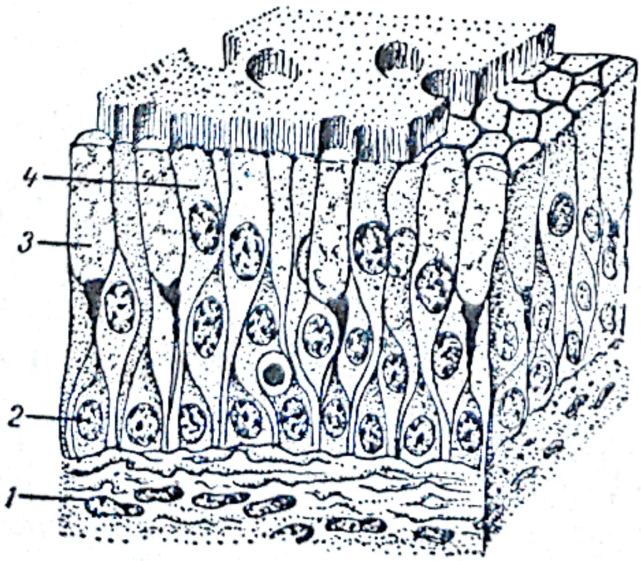


Fig. 77. Schema epiteliului pseudostratificat (după Bargmann):
1 — ţesut conjunctiv; 2 — celulă bazală; 3 — celulă caliciformă; 4 — celulă cu cili.

Epiteliul stratificat este un epiteliu de protecție pentru țesuturile subjacente sau pentru întregul organism (epiteliul tegumentar).

Celulele din stratul cel mai profund sînt dispuse pe o membrană bazală, ca în toate epiteliile de altfel, ea fiind o condensare a MPZ și proteinelor extracelulare. Membrana bazală se găsește sub plasmalema bazală a epiteliilor. Această membrană prezintă o grosime deosebită la epiteliile stratificate, constituția sa chimică face să se comporte ca un filtru semipermeabil. Celulele bazale prezintă prelungiri ce pătrund în țesutul conjunctiv, constituind o legătură puternică, mai ales în cazul epiteliului stratificat și al celui de tranziție. În unele epitelii, pe membrana bazală se observă plăci de tipul desmozomilor, în realitate sînt jumătăți de desmozomi, deoarece se găsesc numai pe o parte și nu și pe partea dinspre țesutul conjunctiv.

Epiteliul stratificat (multistratificat) pavimentos (fig. 78) este format din mai multe straturi de celule. Numărul variază însă cu regiunea, cele mai multe straturi găsindu-se la epiteliul tegumentar.

Celulele bazale sînt cubice sau înalte, cu nucleul mare bogat în cromatină, cu citoplasma fin granulară și în genere bazofilă datorită conținutului în ARN. Aceste celule sînt celule tinere cu o mare capacitate proliferativă atestată de prezența a numeroase mitoze. Această proliferare asigură reînnoirea continuă a stratelor suprajacente, de unde și denumirea de *strat generator*.

Acestui strat îi urmează mai multe rînduri de celule poliedrice, în citoplasma cărora se găsesc tonofibrile care trec din celulă în desmozomi, contribuind la o solidaritate mai mare a celulelor cărora le dă un aspect spinos și denumirea de *strat spinocelular* (fig. 79, 80). La acest nivel, deși se mai găsesc mitoze, ele sînt destul de rare. Straturile superficiale sînt formate din celule pavimentoase, turtite — cu axul longitudinal dispus orizontal — aceste celule comportîndu-se diferit, în funcție de mediu, uscat sau umed. Astfel, la epiteliile care vin în contact cu mediul uscat (atmosfera), celulele superficiale se cheratinizează, își pierd nucleul, degenerează și se descuamează. Celulele degenerate mor și sînt eliminate după desprinderea lor din epiteliu. Procesul de cheratinizare interesează epiteliul stratificat pavimentos al tegumentului care învelește întreaga

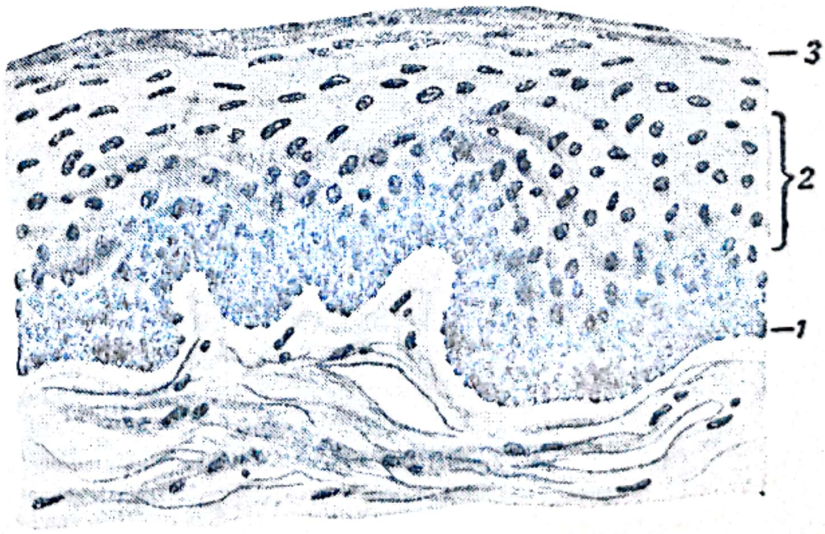


Fig. 78. Epiteliu multistratificat pavimentos.
1 — strat generator; 2 — strat spinocelular; 3 — strat cornos.

suprafaţă a corpului, precum şi epiteliul orificiilor cavităţilor ce se deschid la suprafaţa corpului. Este un epiteliu *stratificat cornos.*

Procesul de cheratinizare începe chiar de la nivelul celulelor superficiale ale stratului spinocelular, este un proces complex, încă incomplet cunoscut; se pare că tonofibrilele sînt implicate în acest proces.

Epiteliile care vin în contact cu mediul umed (epiteliul bucal, esofagian), în mod normal nu se cheratinizează. Ele au însă în citoplasma celulelor incluziuni de precheratinizare.

Epiteliile stratificate avînd un mare număr de straturi, ca, de exemplu, epiteliul tegumentar, ţesutul conjunctiv subjacent proemină sub epiteliu, care la rîndul lui prezintă adîncituri în ţesutul conjunctiv. Prezenţa acestor straturi măreşte suprafaţa de schimb dintre cele două ţesuturi.

Epiteliul stratificat cubic şi prismatic înalt se găseşte mai mult în viaţa embrionară, unde formează baza de diferenţiere a epiteliului stratificat pavimentos. La adult, epiteliul stratificat cubic este format din două rînduri de celule, cele superficiale fiind cuboide, iar cele bazale mai înalte. La adult, din această grupă se consideră că face parte epiteliul bistratificat cuboid al canalelor mici ale glandelor salivare, epiteliul din zonele intermediare ale canalului anal.

Epiteliul stratificat prismatic înalt este format din mai multe straturi, cel bazal din celule cuboidale urmat de mai multe straturi de celule poligonale, stratul superficial fiind format din celule prismatice înalte. În faringe şi laringe există zone unde celulele superficiale prezintă cili, iar în zonele de trecere, ca, de exemplu, de la epiteliul stratificat pavimentos la cel pseudostratificat, cilii lipsesc.

e) *Epiteliul de tranziţie* este caracteristic căilor urinare (ureter, vezică urinară) (fig. 81).

Forma celulelor şi numărul straturilor variază în funcţie de golirea şi distensiunea organului. Cînd vezica urinară este destinsă, epiteliul său este format

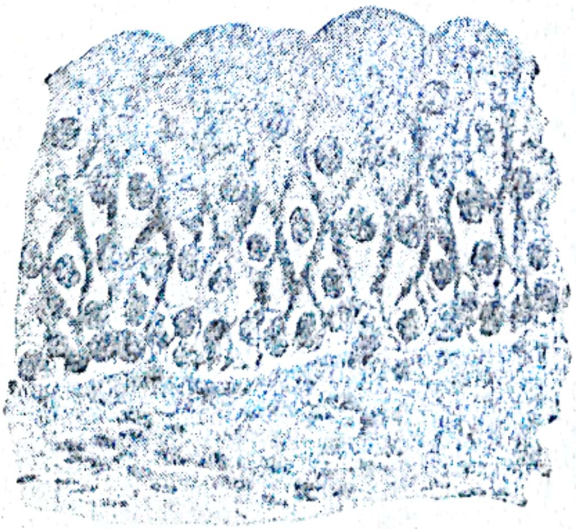


Fig. 81. Epiteliu de tranziţie.

Scanned with OKEN Scanner

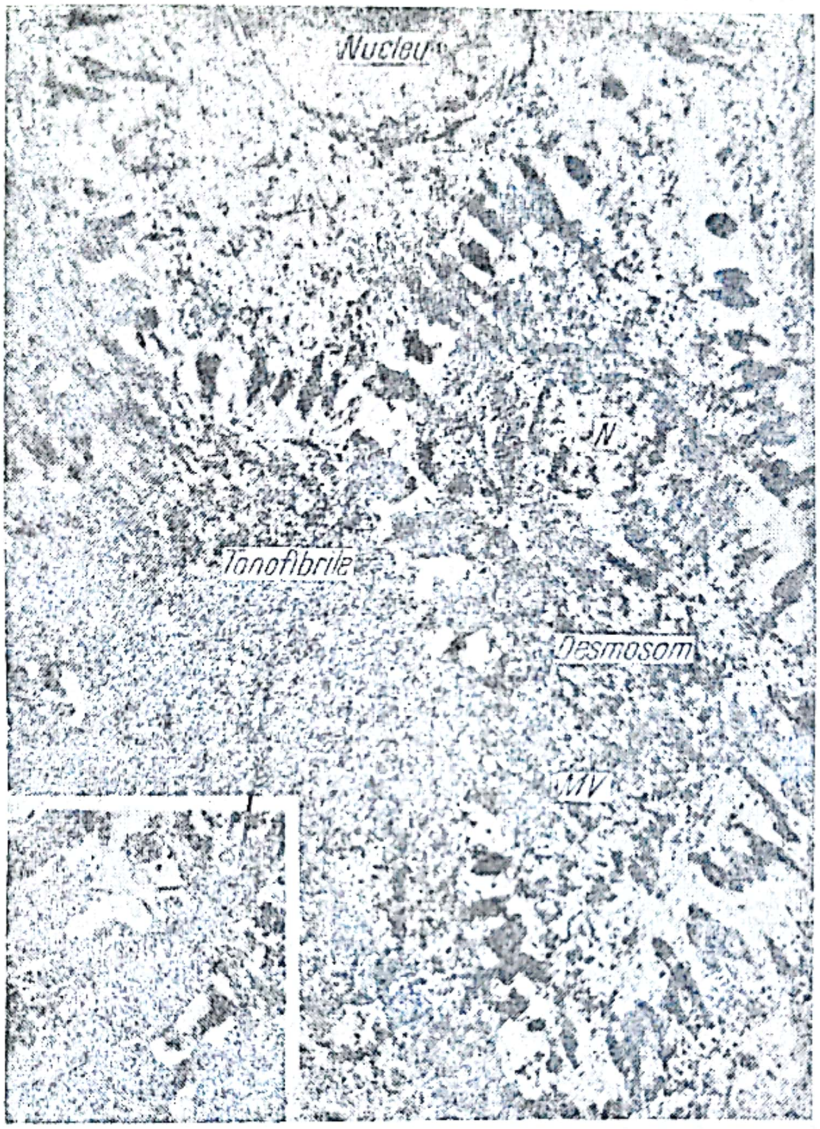


Fig. 79. Microfotografia electronică pentru tonofibrile şi desmozomi:
Mv — microvili; N — nucleu.

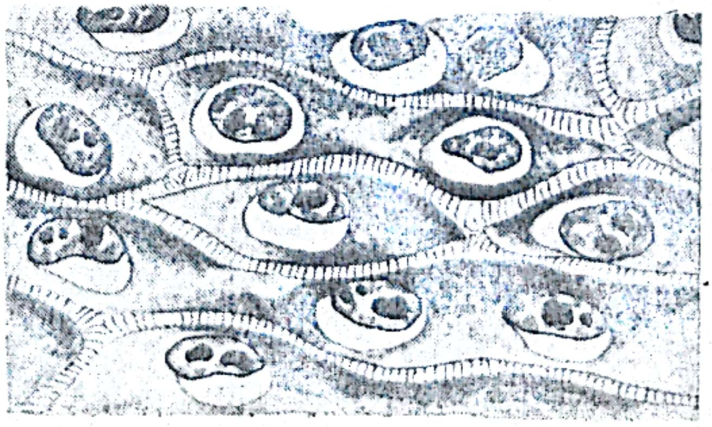


Fig. 80. Strat spinocelular.

Scanned with OKEN Scanner

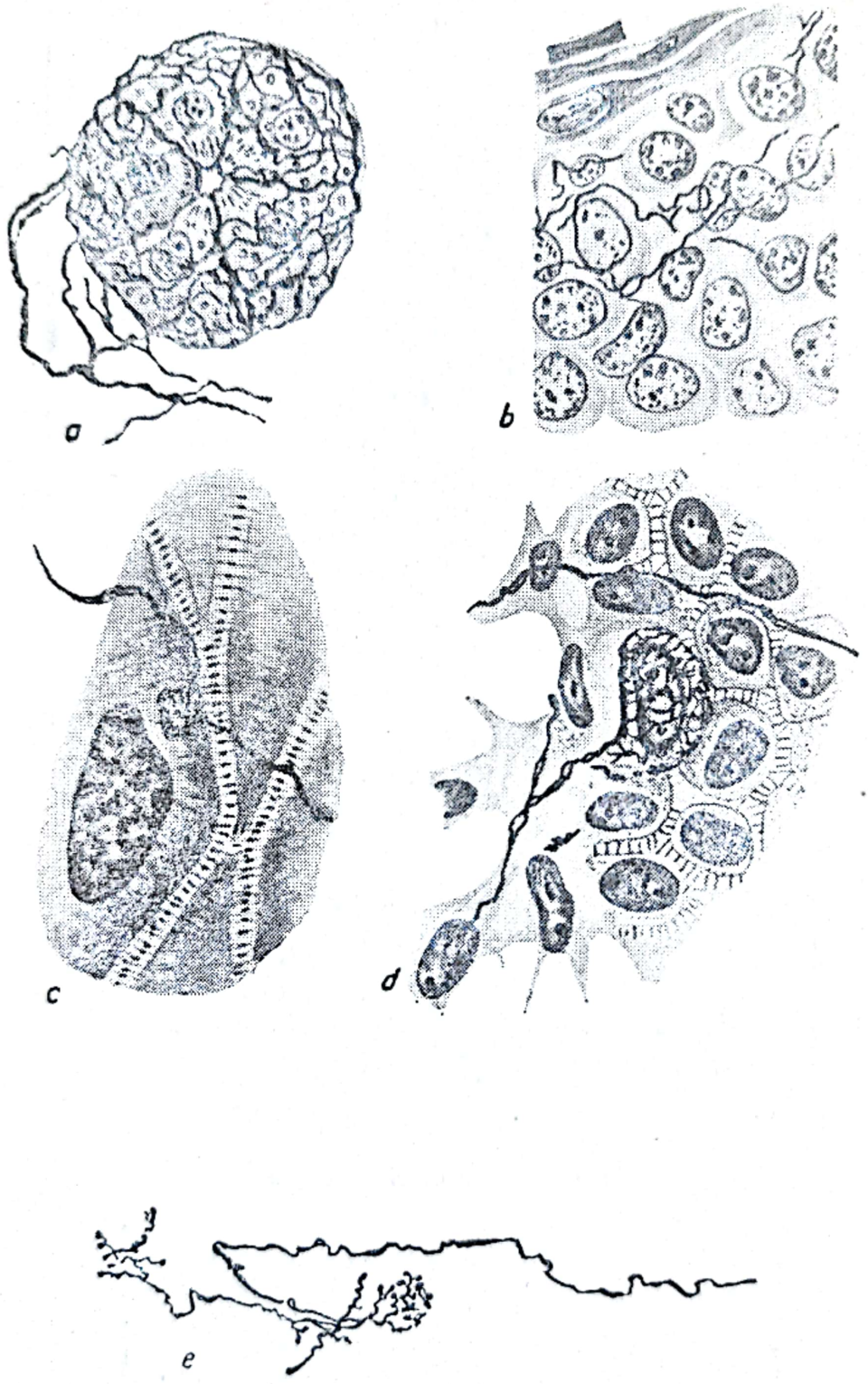


Fig. 82. Inervaţia ţesutului epitelial:
a — fibre nervoase în jurul unui acin seros; b — fibre nervoase în epiderm; c — terminaţiuni nervoase în buton; d — fibre nervoase în jurul unei celule epiteliale modificate; e — terminaţiuni nervoase libere.

Scanned with OKEN Scanner

din două rînduri de celule, iar după evacuarea conținutului, el devine multistratificat.

Examenul la microscopul electronic și citochimia, în condiții normale și experimentale (lezarea epiteliului cu NaOH, uree ș.a), au demonstrat că epiteliul de tranziție este o barieră la trecerea apei și a sărurilor — barieră între sînge și urină. El este relativ permeabil la apă și săruri. Protecția față de substanțele nocive din urină s-ar datora prezenței de cheratină la suprafața sa (R. M. Hicks).

Inervația. Epiteliile de acoperire (înveliș și căptușire) sînt inervate de terminații nervoase amielinice. Terminațiile pătrund în număr mare și fac sinapsa cu celulele epiteliale sau se răspîndesc printre acestea. Se găsesc și terminații nervoase în butoni (fig. 82).

Regenerarea epiteliilor de acoperire. Celulele epiteliale au o viață limitată, ele se uzează, degenerează și mor. Reînnoirea este deci continuă, mai ales la epiteliile stratificate pavimentoase care trăiesc într-un mediu uscat. În timpul reînnoirii se păstrează mereu același număr de straturi. Celulele bazale au rolul de a înlocui celulele distruse. Din acest strat, migrează celule (după diviziune) spre suprafață.

În epiteliul simplu prismatic înalt al tractului digestiv există pe lîngă celulele specializate și celule nediferențiate, care au capacitatea de proliferare și astfel înlocuiesc după diferențiere celulele distruse. Acest epiteliu este înlocuit în întregime la 2—4 zile.

În afară de această regenerare fiziologică, epiteliul se poate regenera și în urma diferitelor leziuni. În acest caz, celulele nelezate de la periferia leziunii vor prolifera și vor aluneca deasupra țesutului conjunctiv refăcut.

Inițial, epiteliul este simplu, apoi, prin diviziunea celulelor bazale, în cazul epiteliului tegumentar, apare stratificarea caracteristică cu conservarea numărului de celule și de straturi.

Histofiziologia epiteliului de acoperire. Din cele relatate pînă acum au reieșit funcțiile fundamentale ale acestui epiteliu, care împreună cu țesutul conjunctiv subjacent formează unități morfofuncționale: tegumentul și mucoasele.

Diferențele structurale regionale nu sînt decît adaptări la funcțiile de: *protecție, absorbție, resorbție, transfer* și *secreție.*

Rolul protector pentru organism este legat de structura epiteliilor stratificate care, prin stratificarea celulelor și prin cheratinizare, se opun acțiunilor mecanice, împiedică evaporarea apei din organism și sînt impermeabile pentru apă, pentru microorganisme (cînd epiteliul este intact). Rolul protector al unor epitelii simple și pseudostratificate se datorează prezenței cililor și a mucusului secretat de celulele cu mucus.

Epiteliului simplu îi revine rolul secretor (epiteliul mucoasei gastrice, intestinale), cel de absorbție (epiteliul intestinal), de resorbție (epiteliul renal), de filtrare (endoteliile și mezoteliile).

Scanned with OKEN Scanner

EPITELIUL GLANDULAR

Epiteliul glandular este format din celule diferenţiate care au proprietatea de a elabora produşi specifici. Celulele, legate între ele prin interdigitaţii, se dispun în diferite moduri. În asociaţie cu ţesutul conjunctiv, cu vasele sanguine şi terminaţiile nervoase el formează organe, numite glande. Natura produşilor este în genere proteică, dar poate fi şi lipidică. Secretul, sintetizat în citoplasma acestor celule, se prezintă sub două aspecte: sub forma de granule coloidale dense, de mărimi diferite sau sub formă de vacuole mici cu un conţinut bogat în apă. Produşii secretaţi de celulele epiteliale glandulare pot fi excretaţi la exteriorul organismului sau în lumenul unor organe, sau trec direct în sînge. După felul produşilor de secreţie şi după locul de excreţie, distingem două mari grupe de glande: *glande exocrine* şi *glande endocrine*.

Histogeneza epiteliului glandular. Acest epiteliu specializat provine din ectoblast sau din endoblast care înmugureşte şi se înfundă în mezenhimul subjacent.

Cînd mugurii păstrează legătura cu epiteliul de origine şi se diferenţiază între o *porţiune secretorie* (adenomer) formată din celulele care elaborează produşii de secreţie şi o *porţiune excretorie* constituită din conducte prin care se elimină produsul de secreţie, la exteriorul organismului iau naştere *glandele exocrine* (glandele salivare, pancreas exocrin, glande sudoripare).

Glandele endocrine iau naştere din invaginări ale aceluiaşi epiteliu ale perioadei embrionare, dar după descinderea în mezenchim, mugurii iau contact cu vasele sanguine şi pierd legătura cu epiteliul de origine. Aceste glande vor fi deci lipsite de canale de excreţie a produşilor elaboraţi de celulele epiteliale glandulare, iar produşii vor trece direct în sînge. Aceşti produşi se numesc *hormoni*. Epiteliul glandular endocrin îşi are originea în cele trei foiţe embrionare. Epiteliul glandular formează *parenchimul glandular* (partea secretorie).

La glandele exocrine, partea secretorie se continuă cu un sistem de canale excretorii; la glandele endocrine unde lipsesc aceste canale, celulele secretorii vin în contact cu cel puţin unul din polii lor, cu capilarele din ţesutul conjunctiv care formează *stroma*. Stroma prin conţinutul ei în vase sanguine şi nervi este prezentă şi în jurul porţiunilor secretorii şi excretorii ale glandelor exocrine.

Celulele epiteliilor glandulare au forme variate: cuboide, înalte, piramidale, poliedrice. În citoplasma lor se găsesc numeroase mitrocondrii şi o zonă Golgi bine dezvoltată ca şi o ergastoplasmă foarte bogată, structuri legate de elaborarea produşilor de secreţie.

De asemenea, celulele epiteliale ale glandelor exocrine, în diferitele faze ale procesului de secreţie, prezintă o polaritate dinamică care împreună cu prezenţa în citoplasmă de granule, picături, vacuole, vezicule foarte mici, reflectă activitatea lor secretorie ciclică.

Scanned with OKEN Scanner

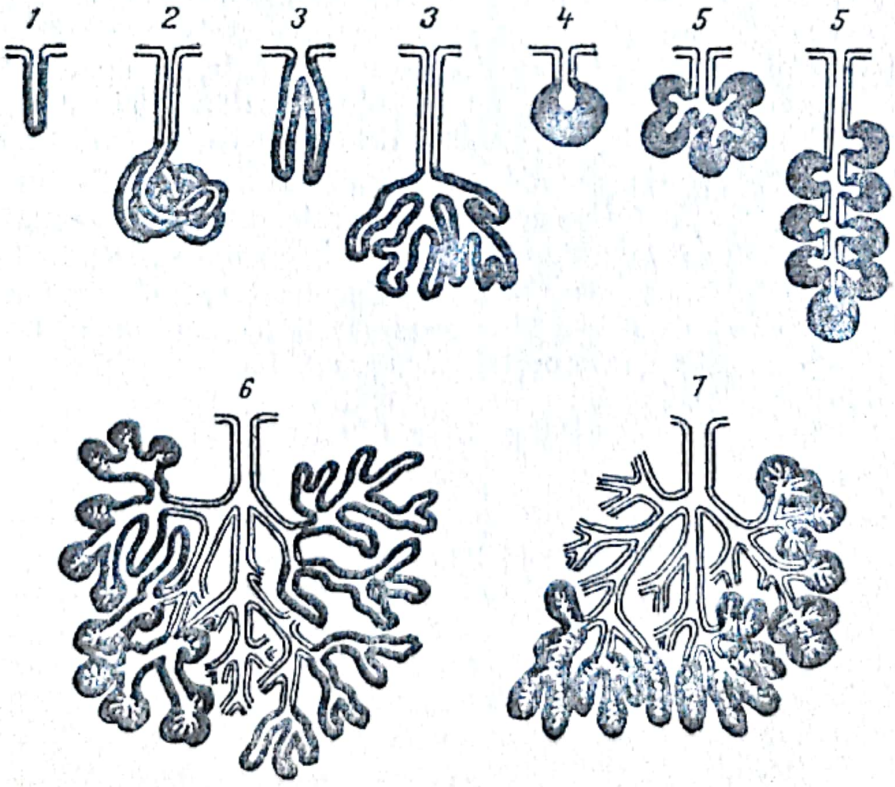
Glandele exocrine, categoria cea mai răspîndită de glande din organism, se deosebesc între ele prin morfologia și structura lor. Clasificarea lor se face după așezarea celulelor glandulare în parenchimul secretor și după ramificarea conductelor de exerciție. În unele cazuri, celulelor glandulare nu formează organe, ci sînt răspîndite printre celulele epiteliului simple de acoperire. Aceste celule se numesc *glande unicelulare* (de exemplu, celulele cu mucus din epiteliu intestinal). În mod obișnuit, însă, celulele secretoare se dispun în *tubi* sau funduri de saci: *alveole* sau *acini*. Dacă porțiunea excreatoare (duct) se deschide direct la suprafață, fără a se ramifica, vorbim de *glanda exocrină tubulară simplă* sau o *glandă exocrină acinoasă* sau *alveolară simplă*. În cazul cînd ductul este ramificat, porțiunea secretorie e formată din mai multe unități, ductul excretor ramificat conectînd nu o unitate, ci mai multe unități secretorii, glanda este o *glandă tubulară compusă* sau o *glandă acinoasă* sau *alveolară compusă*.

Cînd în structura unei glande se găsesc atît porțiuni secretorii tubulare cît și alveolare, glanda este o *glandă compusă tubulo-alveolară*.

Clasificarea este prezentată în diagramă (fig. 83).

1. *Glandele tubulare simple* au forma de tub, al cărui perete format din celule epiteliale glandulare, cu aspect asemănător sau polimorf, se sprijină pe

Fig. 83. Schema diverselor tipuri de glande exocrine:
1 — glandă tubulară simplă; 2 — glandă tubuloglomerulară; 3 — glandă tubulară ramificată; 4 — glandă acinoasă simplă; 5 — glandă alveolară simplă; 6 — glandă tubuloalveolară; 7 — glandă tubuloacinoasă.



o membrană bazală. Celulele nu sînt înalte, lumenul tubului este îngust. Tubii se deschid direct în lumenul organului căruia aparţin, de exemplu, în glandele Lieberkünn din mucoasa jejunului. În realitate, acestea nu sînt adevăratele glande, ci pseudoglande constituite din înfundarea epiteliului de înveliş.

2. *Glandele tubulare compuse (ramificate)* sînt formate din mai mulţi tubi glandulari care fuzionează la nivelul suprafeţei unde îşi varsă produsul de secreţie (de exemplu, glandele din regiunea pilorică).

3. *Glandele tubulo-glomerulare* (de exemplu, glanda sudoripară) sînt formate din porţiunea secretorie tubulară înfăşurată în ghem, căptuşită cu un epiteliu simplu. Tubul se continuă cu un canal excretor, ale cărui celule sînt dispuse pe două straturi.

4. *Glandele acinoase simple* (de exemplu, glanda lacrimală) cu porţiunea secretorie mult dilatată ca nişte sferule, căptuşite cu celule epiteliale de formă piramidală care delimitează un lumen.

5. *Glandele acinoase compuse* sau *tubulo-acinoase*. Acestea sînt larg răspîndite în organism formînd glandele salivare şi parenchimul exocrin al pancreasului. Acinii acestor glande nu sînt altceva decît veziculele terminale ale unui sistem de canale excretorii. Aceşti acini formează parenchimul secretor. Acinii, după produsul lor de secreţie, sînt: acini seroşi, acini mucoşi şi acini micşti.

Acinul seros este format din celule de forma unor triunchiuri de piramidă care delimitează un lumen foarte mic. Celulele sînt angrenate prin interdigitaţii, iar la unii acini, între celule se găsesc spaţii canaliculare care comunică cu lumenul. În citoplasmă, la polul bazal al celulei, la microscopul electronic se observă saci ergastoplasmici cu numeroşi ribozomi. Între saci se dispun mitocondriile. Zona Golgi mult întinsă în perioada de secreţie are o poziţie supranucleară. Zona Golgi e formată din numeroase vacuole, cu un conţinut lichid seroalbuminos. Membrana plasmală de la polul bazal prezintă cute adînci în formă de „S" cu rol în mărirea suprafeţei de absorbţie. La polul apical, citoplasma prezintă produşii de secreţie sub formă de granule. Natura lor este proteică. La periferia acinului se găsesc celule mioepiteliale (v. cap. *Citologie*).

Acinul mucos este mai voluminos, cu celule de forma unui trunchi de piramidă care delimitează un lumen larg. Celulele sînt unite prin interdigitaţii. Citoplasma este spumoasă, săracă în ergastoplasmă, conţine mitocondrii puţine. Produsul de secreţie este o glicoproteină: *mucina*. La periferia acinului se găsesc celule mioepiteliale.

Acinul mixt este mult mai voluminos şi de forme variabile (sferică, neregulată, alungită).

În structura lui intră celule mucoase numeroase care delimitează lumenul şi celule seroase mai puţine, izolate la periferia acinului sub membrana bazală. Comunicarea între acestea şi lumen se face prin canalicul, al cărui traiect intercelular face ca produsul de secreţie al celulelor seroase să ajungă în lumen. Acinul e format, deci, din mai multe celule cuprinse într-o membrană comună (în afară de membrana plasmală a fiecărei celule), numită vitroasă, rezultată prin condensarea ţesutului conjunctiv periacinos în care se află vasele care hrănesc acinul şi terminaţiile nervoase. Vitroasa e semipermeabilă.

Scanned with OKEN Scanner

PROCESUL DE SECREȚIE ÎN CELULELE SEROASE

În procesul de secreție participă toate organitele celulare, participă țesutul conjunctiv din jurul formațiunilor glandulare prin vascularizația și inervația sa. Secreția este declanșată de diferiți stimuli. Secreția poate fi continuă și discontinuă, ca urmare, procesul de secreție este ritmic sau ciclic. Ciclul procesului de secreție se desfășoară în mai multe faze: faza de *absorbție, acumulare, elaborare, excreție.* În toate aceste faze se produc modificări zonale ale celulei, dinspre polul bazal, polul absorbant, spre polul apical, polul excretor. Modificări de permeabilitate a membranei plasmale au loc în timpul acesta, astfel crește permeabilitatea membranei la polul bazal, lăsînd să treacă din vasele sanguine în celulă apa și substanțele necesare sintezei produsului de secreție. Membrana apicală a celulei își pierde permeabilitatea. Volumul celulei crește, crește și volumul nucleului, iar nucleolul dispare treptat. Astfel se acumulează în celulă substanțele absorbite realizînd *faza de acumulare* căreia îi urmează *faza de sinteză.* Citoplasma și-a îmbogățit ARN-ul provenit în mare parte din ARN-ul nucleolar, crește conținutul în ribozomi al ergastoplasmei care devine mai abundentă și crește numărul mitocondriilor. La nivelul poliribozomilor se face sinteza produsului proteic care difuzează în sacii ergastoplasmei, formînd granule de prozimogen care vor fi transportate de reticulul endoplasmic neted la nivelul macroveziculelor complexului Golgi unde se produc condensarea și maturarea produsului de secreție (fig. 84).

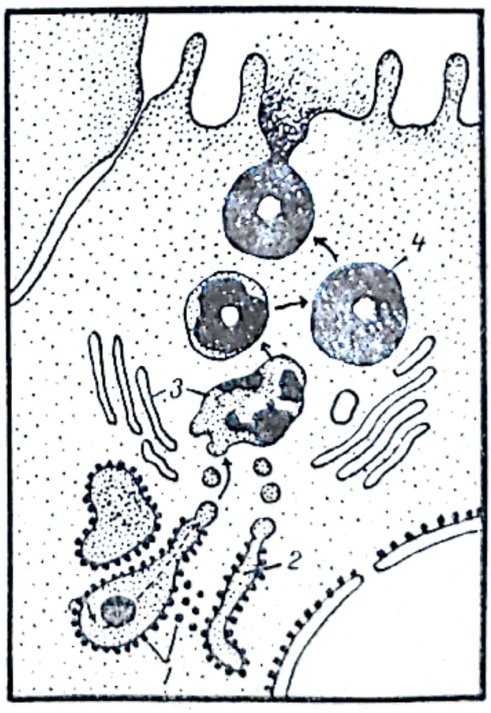


Fig. 84. Schema procesului de secreție în celula exocrină seroasă:
1 — ribozomi; 2 — reticul endoplasmatic; 3 — complexul Golgi; 4 — granule de zimogen (după Robertis).

Scanned with OKEN Scanner

Macroveziculele reprezintă granulele de zimogen şi ocupă citoplasma de la polul apical al celulei. Presiunea coloidosmotică a celulei creşte prin acumulare de granule, membrana apicală devine permeabilă şi în acest moment începe faza de excreţie, adică de eliminare a granulelor de secreţie în lumenul glandelor. Mecanismul de excreţie este pinocitoza inversă, dar produşii care n-au ajuns în stadiu de granule se elimină prin difuziune. În aceeaşi glandă fiecare celulă ce poate găsi într-o altă fază a ciclului. Excreţia este stimulată de secretină.

După mecanismul secreţiei şi excreţiei, glandele exocrine se clasifică: glande merocrine, glande holocrine şi glande apocrine.

Glandele merocrine, cele mai numeroase glande din organism, sînt seroase sau mucoase după natura chimică a produsului lor.

Celulele seroase secretă un produs proteic, o proteină enzimă. Celulele mucoase secretă un produs mai complex format din proteine şi MPZ, este mult mai vîscos decît secretul celulelor seroase. Mucusul formează în citoplasma apicală mase mari care împing nucleul la baza celulei. În faza de elaborare în aceste celule, ergastoplasma este bogată.

Există şi celule care din punctul de vedere al produsului sînt intermediare între mucos şi seros (ca, de exemplu, celulele glandelor din duoden, celulele din porţiunea iniţială a glandelor stomacului), deosebindu-se prin calitatea componentelor chimice. Diferenţele se pun în evidenţă prin metode de histochimie.

Produsul de secreţie este eliminat prin membrana apicală, păstrîndu-se integritatea celulară, prin mecanismul de difuziune şi de pinocitoză inversă. Este modul de excreţie morfostatic.

Glandele holocrine. Celulele secretorii încărcîndu-se cu produşii de elaborare, degenerează şi sînt eliminate o dată cu conţinutul lor. Acesta este modul de excreţie morfokinetic (de exemplu, glanda sebacee).

Glandele apocrine (de exemplu, glanda mamară) sînt glandele ale căror celule excretă produsul de secreţie acumulat la polul apical o dată cu citoplasma apicală şi cu unul din cei doi nuclei. Celula se reface imediat după excreţie şi reîncepe un nou ciclu secretor.

Regenerarea epiteliului glandular este asigurată de capacitatea de multiplicare a celulelor epiteliale care căptuşesc lumenul canalelor excretorii.

Glandele endocrine. Caracterele generale ale acestor glande sînt: lipsa unui canal excretor, dispoziţia celulelor secretorii în contact cu capilarele cel puţin printr-un pol, vascularizaţia dînd deci arhitectonia fiecărei glande.

Produsul de secreţie al celulelor glandelor endocrine — hormonii — sînt de natură fie proteică, fie de natură steroică. În raport cu produsul de secreţie diferă şi structura acestor celule glandulare.

Glandele endocrine vor face obiectul unui important capitol care va fi prezentat ulterior.

Scanned with OKEN Scanner

ŢESUTURILE CONJUNCTIVE

GENERALITĂŢI

Foarte variate ca aspect morfologic şi funcţional, ţesuturile conjunctive prezintă la adult o componentă structurală asemănătoare, fiind alcătuite din celule conjunctive, substanţă fundamentală şi fibre conjunctive, precum şi o origine embriologică comună, fiind ţesuturi ce provin din celulele mezenchimului embrionar. Acestea se formează din foiţa embrionară mijlocie care se găseşte în interstiţiile dintre organele primitive sau în interiorul lor. Ţesuturile conjunctive sînt în continuă formare de-a lungul întregii perioade ontogenetice. Primele elemente ce se diferenţiază sînt celulele mezenchimale, urmate de formarea substanţei fundamentale, în final apărînd şi fibrele conjunctive.

În primele faze ale dezvoltării embrionare, în ţesuturile conjunctive de neoformaţie, ca şi în ţesuturile care păstrează o mare capacitate de morfogeneză (la adult), predomină componenta celulară. În cea de-a doua fază a dezvoltării embrionare, ca şi la copil, ţesuturile conjunctive sînt mai bogate în substanţă fundamentală. Pe măsură ce ţesuturile îmbătrînesc, cresc numeric şi se modifică fibrele conjunctive în dauna substanţei fundamentale care este mai puţină, iar metabolismul celular diminuă mult. Gelatina lui Warthon (ţesut conjunctiv) din cordonul ombilical are o durată de viaţă relativ scurtă, dar păstrează caracterele unui ţesut conjunctiv embrionar mezenchimal. Ţesuturile conjunctive au o *dispoziţie ubiquitară*. Ele realizează conexiuni între diferitele organe din corpul omenesc, fiind considerate ţesuturi de legătură. Se găsesc în cantităţi variabile în interiorul organelor pot constitui entităţi morfofiziologice. Ţesuturile conjunctive se caracterizează printr-un mare polimorfism celular şi tisular, precum şi printr-o accentuată plasticitate, manifestate prin faptul că se pot metaplazia sub influenţa unor factori mecanici în ţesut cartilaginos sau osos. Ţesutul conjunctiv este înrudit cu alte tipuri tisulare cu origine comună mezenchimală. Acestea, denumite încă ţesuturi de tip conjunctiv.

sînt reprezentate în organism prin ţesutul hematopoetic, sînge, endoteliul vaselor, ţesuturile musculare. Ţesuturile conjunctive sînt în general bogat vascularizate şi bogat inervate. Interrelaţia cu vasele este deosebit de importantă, datorită schimburilor active ce au loc în mod normal între sînge şi lichidul tisular. Această circulaţie activă în ambele sensuri este *baza vieţii metabolice zilnice* a ţesuturilor şi organelor, fapt pentru care ţesuturile conjunctive sînt socotite a fi adevăratul mediu intern al organismului. În acelaşi timp, geneza vaselor are loc tot la nivelul ţesuturilor conjunctive, la nivelul componentei omogene care este substanţa fundamentală. Ţesuturile conjunctive formează o simbioză perfectă cu ţesutul epitelial, fiind unite prin intermediul unei membrane bazale, la constituirea căreia iau parte ambele ţesuturi. Ţesuturile conjunctive asigură hrana ţesuturilor epiteliale.

În studiul ţesuturilor conjunctive ne vom ocupa în prima parte de studiul elementelor componente, şi anume: *celule, substanţa fundamentală* şi *fibre*. În cea de-a doua parte se vor descrie principalele tipuri de ţesuturi conjunctive.

CELULELE CONJUNCTIVE

Generalităţi. În ţesuturile conjunctive se întîlnesc o mare varietate de tipuri celulare. Aceste celule pot fi împărţite în două grupe, şi anume: celulele autohtone şi celulele migratorii; din grupele celulelor autohtone fac parte fibrocitul, histocitul, plasmocitul, mastocitul, celula grasă sau lipocitul şi celula pigmentară. În această grupă vom încadra şi celulele de origine embrionară, adică celula mezenchimală şi reticulară. În grupa celulelor migratorii intră celulele care aparţin altui ţesut şi care pătrund în ţesuturile conjunctive. Acestea sînt de obicei elementele sanguine, leucocit (neutrofil, eozinofil, bazofil), limfocitul şi monocitul.

Varietatea mare de tipuri de celule din ţesutul conjunctiv indică *marea diversitate de funcţii,* îndeplinite de aceste celule:

— celulele de origine embrionară au capacitatea de reînnoire continuă a echipamentului celular al ţesutului conjunctiv;
— fibrocitele sînt celule ce îndeplinesc funcţiile metabolice fundamentale (de edificare a fibrelor şi a substanţei fundamentale);
— histocitele şi celulele migratorii sînt elementele reactive;
— plasmocitele, lipocitele şi celulele pigmentare sînt celule cu funcţii speciale, respectiv elaboratoare de proteine, lipide şi pigmenţi;
— mastocitul îndeplineşte rolul de coordonator al tuturor proceselor metabolice din ţesutul conjunctiv. Cu toată diversitatea morfologică şi funcţională, trebuie remarcat că celulele ţesuturilor conjunctive prezintă şi unele caractere morfologice comune. De exemplu: forma neregulată datorită capacităţii de mobilizare şi variaţiei viscozităţii mediului, prezenţa unui film mucopolizaharidic, pericelular, originea embriologică comună, capacitatea de a se divide etc.

Scanned with OKEN Scanner

CELULA MEZENCHIMALĂ

Se găsește în număr mare în timpul dezvoltării embrionare. Prezintă o formă stelată cu multe prelungiri prin care celulele vin în contact, dînd impresia unei așezări în rețea. Ele se pot desface din rețea și se pot diferenția activ în celule rotunde de tip limfoid. Nucleul este situat central, citoplasma este slab bazofilă și conține organitele celulare comune. Uneori, celulele mezenchimale se apropie mai mult între ele, se aplatizează și dau naștere endoteliului vascular. De asemenea, ele pot da naștere elementelor sanguine primitive. Celulele mezenchimale se reduc ca număr către sfîrșitul perioadei embrionare, iar la adult rămîn în număr foarte redus de-a lungul unor vase sanguine de calibru mic localizate mai ales în țesutul hematopoetic. Ele își păstrează și la adult caracterul embrionar de celulă multipotențială, constituind cap de serie pentru toate celulele țesuturilor conjunctive sau ale țesuturilor de aceeași origine, ca țesutul muscular, vascular și sînge.

În țesutul conjunctiv adult se recunoaște mai greu, avînd o formă și o structură asemănătoare cu a fibroblastului tînăr. Se deosebește de acesta numai printr-o talie ușor mai redusă și prin comportamentul față de diferiții stimuli. Celula mezenchimală reacționează diferențiindu-se activ în alte tipuri de celule adulte, în timp ce fibroblastul este o celulă a cărei diferențiere este încheiată.

CELULA RETICULARĂ

Derivă din celulele mezenchimale și prezintă caractere structurale și potențialități de evoluție care amintesc celulele de origine. La embrion și făt, celulele reticulare se găsesc în număr mare, scad după naștere, iar la adult rămîn prezente numai în organele limfo și hematopoetice. Celulele reticulare au un diametru de 18—20 microni și o formă neregulată, de cele mai multe ori alungită sau stelată. Din corpul celular pleacă două sau mai multe prelungiri prin care celulele reticulare stabilesc contacte între ele. Nucleul este mare de 10—12 microni, de formă ovală, așezat central. Se colorează palid datorită unei cantități mici de cromatină de aspect pulverulent. În interiorul nucleului pot fi observați 1—4 nucleoli voluminoși.

În citoplasma abundentă, slab bazofilă, se observă mitocondrii puține și de talie mică. Reticulul endoplasmic de aspect neted se prezintă sub forma unor rari saci aplatizați, printre care apar în citoplasmă ribozomi liberi. Complexul golgian este redus. În citoplasmă se mai găsesc diferite incluziuni de origine fagocitară, sub formă de resturi de hematii sau resturi nucleare.

O mare parte din celule alcătuiesc grupul *celulelor reticulare primitive*. Ele prezintă potențialități multiple de diferențiere, constituind celula de origine pentru alte tipuri celulare ale țesuturilor conjunctive. Un număr mai redus de celule reticulare se încadrează în grupul *celulelor reticulare fagocitare*. Aceste celule se află într-un stadiu de diferențiere mai avansat decît primele

şi vor prezenta o activitate fagocitară puternică. Celulele reticulare din acest grup sînt considerate macrofage fixe. În anumite condiţii, ele pot să se mobilizeze, devenind celule macrofage libere.

FIBROCITUL

Este celula cea mai răspîndită în ţesuturile conjunctive. Denumirea de fibrocit aparţine primilor histologi, care i-au atribuit de la început un rol principal în formarea de fibre conjunctive, rol confirmat de studiile moderne de microscopie electronică şi biochimie. Forma tînără a celulei poartă denumirea de *fibroblast*, forma adultă de *fibrocit*. În ţesuturile conjunctive, celula se găseşte în ambele forme. Din concepţiile clasice referitoare la morfofiziologia fibrocitului, unele noţiuni legate în special de funcţia celulei au fost confirmate astăzi, altele însă care prezentau fibrocitele ca fiind anastomozate în reţea au căzut, în urma studiilor electrono-optice care au stabilit individualitatea celulară şi existenţa raporturilor de contiguitate între fibrocite, fără fuziune de citoplasmă. De asemenea, nu se mai poate vorbi astăzi de fibroblast ca de o celulă imobilă lipsită de mişcare, aşa cum era privită de histologii clasici, ci ca de un element care în anumite condiţii fiziologice particulare se poate deplasa cu viteze în general reduse.

Originea. Fibroblastele iau naştere din celule mezenchimale sau din alte fibroblaste. Foarte rar ele pot lua naştere şi din alte tipuri celulare, ca, de exemplu, din celulele endoteliale şi din fibrele musculare netede. La rîndul lor, fibroblastele se pot diferenţia în adipoblaste şi pigmentoblaste, transformare care are un caracter reversibil.

Caractere morfologice. Fibroblastele au un diametru de aproximativ 20 microni, forma lor este alungită, uneori stelată, cu prelungiri efilate, pe alocuri bifurcate, ale căror capete se pierd discret. Celula prezintă un contur destul de neprecis. Membrana plasmatică fiind foarte subţire, de aproximativ 60 Å, nu a putut fi observată la microscopul obişnuit. Ea prezintă o structură trilaminată lipoproteică caracteristică tuturor membranelor celulare. La nivelul ei nu se observă văluri ondulate. Membrana plasmatică este dublată la exterior de un film mucopolizaharidic. Nucleul fibroblastului este mare, rotunjit, sau mai degrabă oval cînd este privit în faţă, turtit atunci cînd este văzut din profil, fiind aşezat de cele mai multe ori în centrul celulei. Nucleul apare palid, slab cromatic datorită faptului că în interiorul lui, cromatina este dispersată sub formă de pulbere fină. El poate conţine 1—2 nucleoli, uneori şi mai mulţi. Citoplasma slab bazofilă conţine organite celulare comune. Granulele mitocondriale sînt abundente, de obicei în citoplasma din apropierea nucleului şi sînt rare sau lipesc complet în prelungirile citoplasmatice; centrozomul sub formă de diplozom este justapus nucleului; reticulul endoplasmic de tip rugos este bine reprezentat. În citoplasmă se află rari ribozomi liberi. Ocazional, în citoplasma fibrocitului apar incluziuni sub formă de picături mici.

În unele condiţii fiziologice, fibroblastul conţine în ectoplasmă granule metacromatice, PAS pozitive, considerate ca o dovadă a capacităţii celulei de a

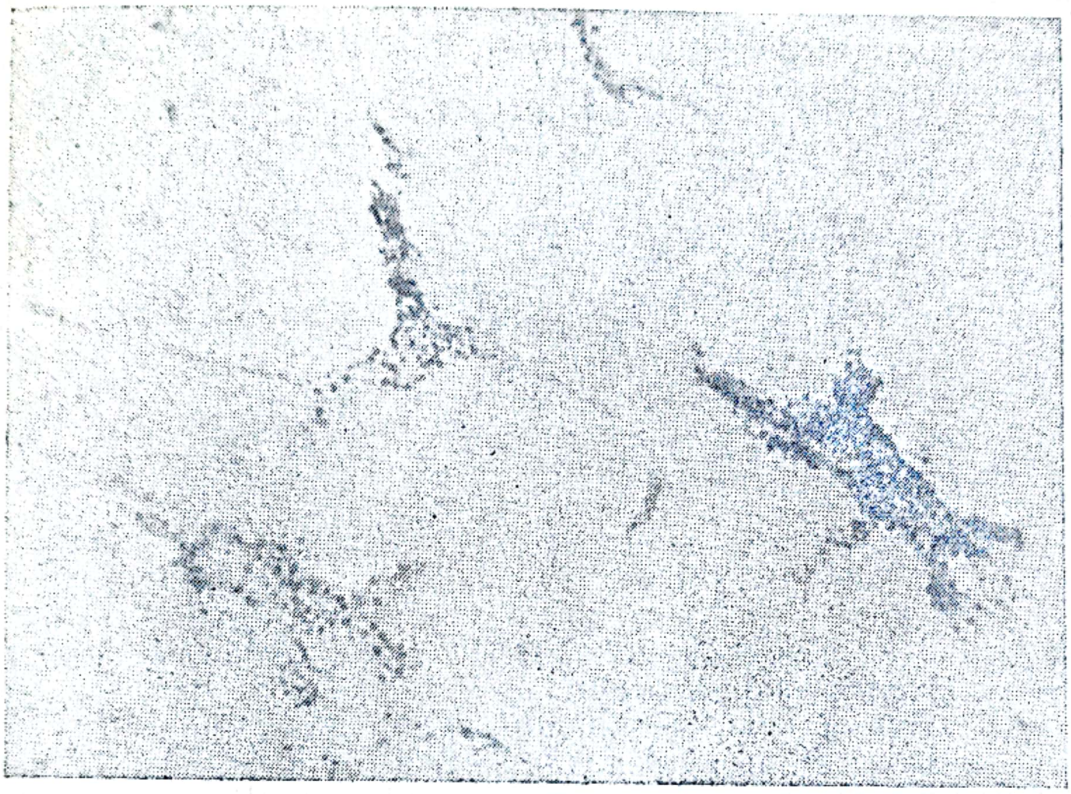


Fig. 85. Fibroblaşti în mezenter. Reacţia histoenzimologică pentru ATP-ază.

de a elabora substanţe mucopolizaharidice. Mai poate conţine, în special în ectoplasmă, formaţiuni fragmentare fibrilare neorientate, considerate elementele precursoare ale colagenului.

În mod obişnuit, fibroblastele prezintă o mobilitate redusă. În anumite condiţii, însă sub acţiunea unor factori excitanţi (temperatura crescută sau prezenţa de ATP în mediu), celulele, deşi lipsite de valuri ondulate, prezintă mişcări mai ample, şi anume: mişcări *interne* sub formă de curenţi intracitoplasmatici de flux şi reflux, sau sub formă de mişcări sacadate şi *mişcări externe*, sub formă de deplasări de-a lungul fibrelor conjunctive. Acestea se efectuează prin emitere de pseudopode sau printr-o alunecare a hialoplasmei în masă, asemănătoare cu mişcarea melcului.

Fibroblastele se multiplică activ prin cariokineză, şi mai rar prin amitoză, asigurînd astfel reînnoirea celulelor respective. În vederea diviziunii, celula îşi retrage prelungirile, îşi modifică forma, devine rotunjită, intră în agitaţie continuă şi emite prelungiri inframicroscopice sub formă de văluri. Celulele-fiice revin la forma alungită a fibroblastului matur.

Cercetările efectuate în ultimii ani în laboratorul de Histologie al facultăţii de Medicină din Bucureşti dovedesc că fibroblastul posedă un bogat echipament enzimatic necesar intensei sale activităţi de sinteză. Celula prezintă o intensă activitate diaforazică, a enzimelor ciclului Krebs, a enzimelor glicolizei anaerobe, o puternică activitate ATP-azică şi nucleotidazică (fig. 85). Aceste enzime vor asigura desfăşurarea unei activităţi metabolice obişnuite de fiecare

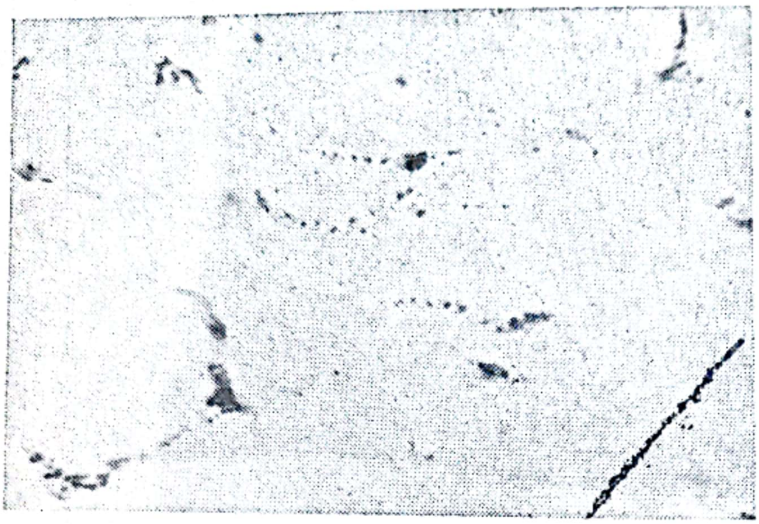
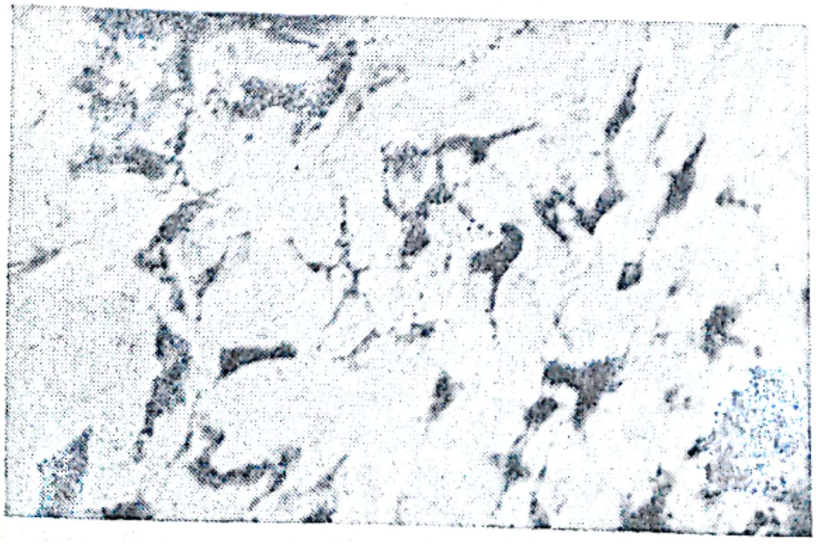


Fig. 86. Fibroblaşti în cordonul ombilical. Uridindifosfo-glucuronic acid epimeraza.

zi în celulă, precum şi a unei pronunţate activităţi elaboratoare de protene. Totodată, în fibrocite sînt prezente şi hidrolazele acide (sulfataze, peptidaze, fosfataza acidă), esterazele nespecifice şi lipaza. O caracteristică a activităţii tuturor enzimelor indicate mai sus este dată de variaţia intensităţii reacţiei pe grupe sau zone celulare. Într-un teritoriu de ţesut conjunctiv dat se pot remarca grupe de fibrocite foarte intens reactive care alternează cu zone celulare slab reactive.

La nivelul fibroblastului sînt deosebit de active *epimerazele* enzime care catalizează interconversia moleculară a unor compuşi hexozici şi pentozici la nivelul carbonului asimetric. Epimerazele care lucrează asupra hidrocarbonatelor, şi anume, asupra compuşilor nucleotidhexozici, au fost cele mai studiate. *Uridindifosfo-glucuronic acid epimeraza* catalizează conversia acidului glucuronic (legat de nucleotid) în acid galacturonic sau ioduronic necesar constituirii moleculelor de acizi condrointin sulfurici (fig. 86). *Uridindifosfo-galactoz-epimeraza* transformă UDP-galactoza în UDP-glucoză; *uridindifosfo-N-acetil glucozamin-epimeraza* intervine asupra N-acetil glucozaminei (legată de nucleotid) cu producerea monozaminei sau galactozaminei, compuşi necesari substanţei fundamentale a ţesuturilor conjunctive sau constituirii membranelor celulare. Tot în fibroblast este activă *hidroxiprolin-epimeraza* ce intervine în degradarea unuia dintre acizii aminaţi de bază ai colagenului — hidroxiprolina (fig. 87). Această epimerază metabolizează în special hidroxiprolina liberă şi o introduce apoi în ciclul Krebs sau către sinteza de alanină. Rămîne încă de dovedit dacă hidroxiprolin-epimeraza intervine şi în sinteza de colagen (este posibil ca ea să intervină în momentul

Fig. 87. Fibroblaşti în dermul pielii. Hidroxiprolin-epimeraza.



Scanned with OKEN Scanner

încorporării hidroxiprolinei în molecula de colagen, acționînd asupra hidroxiprolinei legată de o componentă proteică). Evidențierea activității epimerazelor la nivelul fibroblastului constituie o dovadă foarte puternică asupra intervenției directe și deosebit de active a celulei în metabolismul substanței fundamentale și a colagenului din țesuturile conjunctive. Activitatea epimerazică este cu atît mai accentuată cu cît celulele sînt mai tinere. Acest lucru a fost observat atît la fibroblaști în culturi de țesuturi „in vitro" cît și la fibroblaștii din cordonul ombilical care posedă caractere morfologice și potențialități funcționale apropiate de ale celulelor mezenchimului embrionar.

Fibroblaștii în culturi in vitro desfășoară o activitate metabolică mult mai intensă decît celula tisulară in vivo. S-a putut constata că aceste celule din culturile de țesut posedă un spectru enzimatic deosebit de larg, caracteristic de altfel tuturor celulelor de tip embrionar. La nivelul lor sînt deosebit de active aproape toate enzimele oxido-reductorii mitocondriale și hialoplasmatice, precum și enzimele legate de membrana celulară și de citomembrane. Fibroblastele sînt sensibile la acțiunea unor hormoni; aceștia pot modifica numărul lor, dar mai ales pot interveni și influența funcțiile celulare. Astfel, ACTH-ul și tiroxina inhibă multiplicarea fibroblastică, scade puterea de sinteză celulară, pentru unii compuși ai substanței fundamentale, crește depunerea de colesterol: hormoni anterohipofizari (somatotrop, gonadotrop, tireotrop) stimulează creșterea numerică și dimensională a celulei; de asemenea, stimulează formarea substanțelor mucopolizaharidice la nivelul fibroblastului.

Cercetările histoenzimologice efectuate asupra unor teritorii conjunctive cunoscute ca hormonosensibile confirmă în mod direct controlul hormonal asupra metabolismului fibrocitelor. Așa, de exemplu, fibrocitele din țesutul conjunctiv interstițial al miometrului cunosc o puternică activare a lipazei în post partum, o activare a hidroxiprolinepimerazei și complexului prolinoxidazic în ultima fază a gestației și imediat în post partum.

Funcțiile fibroblastului. Din cele prezentate mai sus se poate desprinde că principala funcție a fibroblastului este cea de a sintetiza precursorii mucopolizaharidici și ai colagenului. Această funcție se bazează pe următoarele argumente: caracterele morfologice generale ale fibroblastului sînt cele ale unor celule secretorii; fibroblastul prezintă un reticul endoplasmic de tip rugos și o zonă Golgi care se dezvoltă mult în stările active ale celulei. În fibroblast au fost detectate substanțe mucopolizaharidice (histochimic) și protofibrilele de tropo-colagen (la microscopul electronic).

Cercetările histoenzimologice și îndeosebi localizarea epimerazelor în fibrocite dovedesc că celula utilizează intens și specific moleculele organice de bază ale colagenului și mucopolizaharidelor. Este de remarcat caracterul pendulant (variațiile de intensitate zonală) al activității enzimelor fibroblastelor.

Putem să credem că fibrocitul ține sub controlul său starea de agregare atît a fibrelor cît și a substanței fundamentale. În acest sens pledează bogata activitate a hidrolazelor acide întîlnite în fibrocit și în mod deosebit prezența lizozomilor secundari (demonstrați de noi în culturile primare de fibroblaștii, în vitro aflați

Scanned with OKEN Scanner

în cea de-a treia fază a dezvoltării lor). Tot în favoarea existenţei unui control al fibroblaştilor asupra filmului şi substanţei fundamentale conjunctive pledează şi faptele menţionate în paragraful precedent privind influenţa hormonilor asupra acestor celule.

O altă funcţie a fibroblastului este capacitatea lui de a se transforma în alte tipuri de celule conjunctive. Aşa, de exemplu, se poate încărca cu grăsime, transformîndu-se în celulă grasă, poate sintetiza sau îngloba pigment, formînd celula pigmentară. În anumite situaţii poate fi sursă de histiociţi.

După cum s-a mai menţionat, fibroblastul este capabil să se mişte foarte lent în lungul fibrelor, în funcţie de starea de agregare a substanţei fundamentale.

HISTIOCITUL

Este celula mobilă şi deosebit de activă a ţesuturilor conjunctive. Ea se găseşte în număr mai redus în ţesutul conjunctiv lamelar şi în cantitate mai mare în corionul mucoaselor tubului digestiv, căilor respiratorii superioare, în organele limfoide şi în zonele bogat vascularizate.

Originea. Histiocitele pot deriva la adult din celulele reticulare, din histiocitele preexistente care se divid prin mitoze, din transformarea directă a fibroblastului. De asemenea, se discută posibilitatea formării lor din celulele endoteliale, sau din alte tipuri celulare, ca pericitele, fibra musculară netedă arteriolară, unele celule din pulmon etc.

Caractere morfologice. În ţesuturi se prezintă sub aspecte morfologice diferite în funcţie de activitatea variată şi foarte intensă pe care o desfăşoară. În ţesuturile conjunctive, histiocitul poate fi urmărit în evoluţia lui de la stadiul de prehistiocit la forma de histiocit adult, cu cele două diferenţieri: în *histiocit macrofag şi histiocit elaborator de proteine*. Numărul histiocitelor creşte foarte mult în inflamaţii.

Prehistiocitul, celulă tînără, prezintă o formă rotunjită şi un diametru de 8—10 microni. Nucleul este mare, rotund, aşezat central, conţine 1—3 nucleoli. În citoplasma săracă din jurul nucleului, mitocondriile sînt rare, reticulul endoplasmatic este puţin dezvoltat cu rari ribozomi ataşaţi la membrană; ribozomii liberi sînt în număr redus; complexul golgian este rudimentar, centrozomul este prezent lîngă nucleu. Prehistocitele sînt în continuă activitate mitotică în vederea formării de noi histocite.

Histocitul adult are o formă neregulată, cu numeroase prelungiri citoplasmatice.

Nucleul de formă alungită prezintă de obicei un nucleol şi cromatină sub formă de grunji mari, ceea ce face ca aceasta să apară mai intens cromatic decît nucleul fibroblastului. Nucleul este aşezat mai excentric în celulă şi este de talie mai mică decît a fibroblastului. În citoplasmă se găsesc numeroase mitocondrii, un reticul endoplasmic rugos, complexul golgian bine dezvoltat, ribo-

Scanned with OKEN Scanner

zomi liberi şi o centrosferă justanucleară. Mai pot fi observate în citoplasmă vacuole, enclave de naturi diferite, sub formă de particule lipidice, particule de feritină, resturi celulare fagocitate. Plasmalema prezintă la suprafaţa celulei membrane ondulante, groase de 2—3 zecimi de microni de forme şi amplasări variabile. Celulele emit pseudopode şi prezintă la suprafaţa membranei celulare microvilozităţi în formă de deget de mănuşă, lungi de 0,08—0,1 microni şi largi de 0,2—0,05 microni. În histiocit se desfăşoară o vie activitate metabolică, celula fiind echipată bine cu enzime oxido-reductorii aerobe şi anaerobe cu fosfataze, exteraze şi hidrolaze acide.

Histiocitul macrofag. Nu diferă ca structură şi infrastructură de histiocitul adult decît prin dezvoltarea unor organite celulare. Astfel, în citoplasmă se observă o dezvoltare mai pronunţată a complexului golgian şi a lizozomilor şi o reducere a reticulului endoplasmatic rugos. Este mult mai bogat în activităţi enzimatice în special de tipul hidrolazelor acide, necesare funcţiei active fagocitare pe care o desfăşoară.

Histiocitul elaborator de proteine se găseşte mai ales în locurile şi în momentele în care se produce substanţă fundamentală şi fibre în ţesutul conjunctiv. Forma celulei este neregulată, în citoplasmă sînt numeroşi saci ergastoplasmici dilataţi cu un conţinut mai mult omogen. Complexul golgian este foarte evident, mitocondriile apar mai numeroase ca şi ribozomii liberi. Prezenţa acestor organite celulare atît de dezvoltate sînt dovada unei bogate activităţi metabilice de sinteză în celulă.

Fagocitoza, pinocitoza, micropinocitoza sînt forme de activitate prin care celula intervine în apărarea organismului, înglobînd bacterii, hematii degenerate, fragmente de celule dezintegrate, corpi străini. În acest scop, histiocitul adult capătă proprietăţi macrofagice evidente, capacităţile sale funcţionale se dezvoltă la maximum, celula se transformă în celulă macrofagă mobilă. Puterea de a fagocita particule ultramicroscopice este foarte accentuată la histiocite; sînt fagocitate astfel particule de carbon coloidal, coloranţi coloido-acizi ca albastru de tripan, care vor fi depozitate în citoplasmă sub formă de granule sau vacuole. Datorită uşurinţei cu care fagocitează coloranţii coloidali (coloranţi denumiţi vitali), histiocitele pot fi lesne evidenţiate în ţesuturi.

Histiocitele împreună cu alte celule care posedă caractere morfofuncţionale asemănătoare constituie sistemul reticulohistocitar, denumit încă sistemul macrofag al organismului.

Celulele *sînt deosebit de mobile* datorită prezenţei la nivelul lor a numeroaselor văluri ondulante şi pseudopode. Celula se deplasează cu viteză destul de mare în ţesutul respectiv, în special sub influenţa stimulilor inflamatori. În unele cazuri, în deplasarea lor lasă în urmă fragmente de citoplasmă din prelungirile celulare, ce apar ca mărgele înşirate pe aţă, fenomen care a primit denumirea de clasmatoză. Vechii histologi au dat chiar denumirea de clasmatocit acestei celule, descriind-o ca o celulă aparte ce intră în constituţia ţesutului conjunctiv. În afară de mişcarea de deplasare, celulele prezintă şi mişcări interne deosebit de vii care produc deplasarea mitrocondriilor, a celorlalte organite în citoplasmă prin mişcări de *tip reoid* (ca o scurgere de hialoplasmă) sau de *tip mioid* (sub formă de contracţii hialoplasmatice sacadate şi neregulate).

Scanned with OKEN Scanner

În anumite condiţii fiziologice locale, histiocitele pot sintetiza sau acumula produşii metabolici, *se pot transforma* astfel în celulă adipoasă, celulă pigmentară sau în cazuri patologice în celulă xantomatoasă (celulă încărcată cu esteri de colesterină).

În unele organe, ca ovar, testicul, glandă mamară, uter şi placentă, histiocitele conţin o cantitate crescută de fosfolipoproteine, se grupează şi formează celulele interstiţiale ale structurilor respective. Aceste celule pot avea şi o structură particulară, precum şi funcţii de natură endocrină.

PLASMOCITUL

Este o celulă ce se întîlneşte în număr mic în ţesuturile conjunctive normale, cu excepţia ţesuturilor limfoid şi a membranelor seroase, dar devin foarte numeroase sub influenţe patologice, trădînd prin acumularea lor într-un asemenea ţesut existenţa unui proces inflamatoriu cronic.

Caractere morfologice. Celula este de forma ovală sau rotundă, cu nucleu aşezat excentric. Cromatina nucleară sub formă de grunji alungiţi este dispusă radiar, dînd aspectul caracteristic de nucleu cu spiţe de roată (fig. 88).

Citoplasma este intens bazofilă datorită prezenţei unui reticul endoplasmatic rugos deosebit de dezvoltat. În zona perinucleară, bazofilia este scăzută, realizîndu-se un halou clar citoplasmatic. Complexul golgian este mărit, la nivelul lui predominînd macroveziculele. În citoplasmă sînt semnalate mitocondrii, centrozomi şi uneori formaţiuni mici rotunde, acidofile, denumite corpii lui Russel, care reprezintă zone condensate ale produsului de secreţie celular.

Caractere funcţionale. Plasmocitul intervine în organism în procesele de apărare, în procesele imunologice prin sintetizarea şi secreţia de gamaglobulină. Posibilitatea de formare a anticorpilor creşte după naştere, ca răspuns la numeroşii antigeni primiţi de către organism. Se pare că fiecare celulă plasmocitară este specializată pentru un anumit anticorp, dar acelaşi antigen poate determina formarea a variate tipuri de anticorpi de către o singură celulă. Celula este foarte activă şi prezintă vii procese metabolice de sinteză şi secreţie.

Originea. Plasmocitul poate lua naştere din celula mezenchimală şi reticulară. În ultima vreme se discută tot mai mult posibilitatea formării celulei pe seama limfocitului. În primele lor stadii de diferenţiere, plasmocitele se deosebesc greu de limfoblaşti şi prolimfociţi, de aceea este încă dificil de stabilit dacă limfocitul în momentul sau numai după transformările lui în celulă cu funcţie imunologică poate să se diferenţieze în plasmoblast, proplasmocit, plasmocit. Acest fapt, precum şi însăşi posibilitatea genezei plasmocitului din limfocit rămîn să fie dovedite.

Studii efectuate pe nodulii limfatici au arătat existenţa a trei etape de diferenţiere a plasmocitului: *plasmoblastul* celulă cu un nucleu mare aşezat central uneori şi excentric şi cu reticul endoplasmic de tip rugos redus; *proplasmocitul*

Scanned with OKEN Scanner

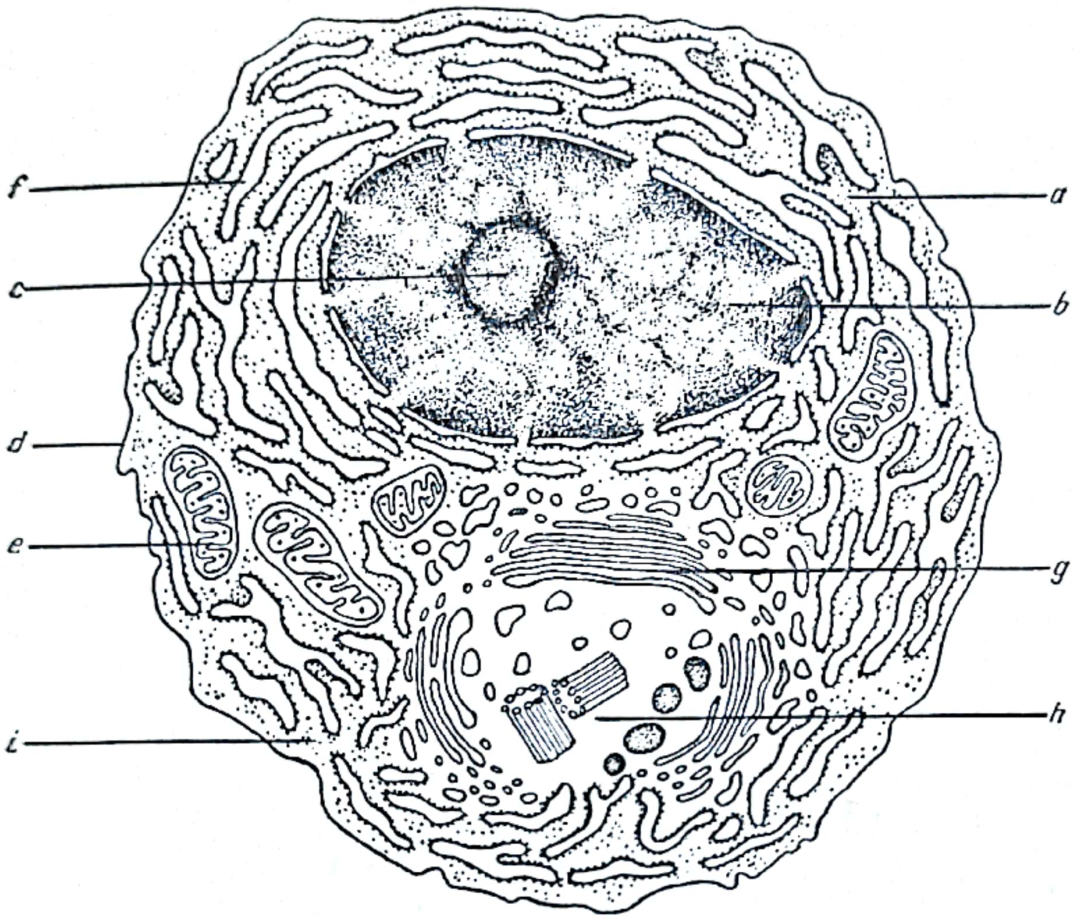


Fig. 88. Plasmocit M.E.:
a — hialoplasmă; b — nucleu; c — nucleol; d — membrana plasmatică; e — mitocondrii; f — reticul endoplasmatic rugos; g — complex golgian; h — centrul celular; i — ribozomi liberi.

conține un nucleu mic situat excentric are o citoplasmă intens bazofilă datorită unei abundent reticul endoplasmic rugos; proplasmocitul se transformă mai departe în *plasmocit*.

CELULA GRASĂ – ADIPOCITUL – LIPOCITUL

Este o celulă ce se întîlnește frecvent în țesutul conjunctiv lax; se observă mai rar ca celule izolate și mai degrabă asociate și organizate, alcătuind țesutul adipos.

Originea. În faza embrionară, lipocitele pot lua naștere direct din celulele mezenchimale iar, după naștere și la adult se formează din celule diferențiate ale țesuturilor conjunctive — fibroblast și histioblast. În citoplasma fibroblastului care se transformă în lipocit apar un reticul endoplasmic abundent și numeroase mitocondrii. Celula prezintă 4—6 prelungiri citoplasmice. Pe măsură ce

Scanned with OKEN Scanner

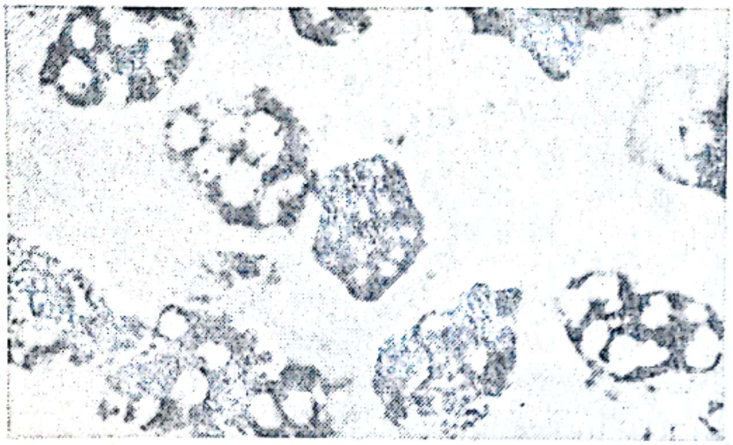


Fig. 89. Celula grasă în diferite etape de formare: NADH-diaforaza.

picăturile lipidice se înmulţesc în celulă, prelungirile citoplasmice dispar, iar reticulul endoplasmic se reduce evident. Picăturile lipidice, la început mici şi rare dispersate în toată citoplasma, cresc numeric şi în diametru, confluează la sfîrşitul evoluţiei adipocitului într-o masă comună de grăsime. Citoplasma celulei se reduce foarte mult şi este împinsă la periferia lipocitului împreună cu nucleul care devine excentric. Se realizează astfel imaginea de inel cu pecete în care citoplasma reprezintă inelul, iar nucleul proeminent la unul din polii celulei, pecetea. Pentru a se transforma în celule adulte, celulele trec succesiv prin faza de lipoblast, prolipocit şi lipocit matur. Cercetări de microscopie electronică şi de histoenzimologie efectuate în laboratorul de Histologie din Bucureşti au putut demonstra că fibrocitele se pot transforma în histiocite, şi acestea mai departe în lipocite. Aceste observaţii au permis acceptarea ideii genezei lipocitului şi din histiocit. Cercetările privind localizarea NADH-diaforazei şi a enzimelor ciclului Krebs permit să se remarce prezenţa tuturor etapelor de transformare a celulelor conjunctive în lipocite (fig. 89). Caracterul de lipocit este reversibil, deoarece celula cedează grăsimea din interiorul ei pentru nevoile mari ale organismului (de exemplu, în inaniţie) şi poate relua caracterul de fibroblast sau histioblast.

Caractere morfologice. Lipocitul este o celulă mare care poate măsura peste 120 microni diametru; are o formă rotundă, ovală sau poliedrică (formă de compresiune). În stare proaspătă, celula este puternic refringentă, iar grăsimea prezintă de cele mai multe ori o culoare gălbuie datorită unui pigment (lipocrom) pe care îl conţine. După fixare, celula grasă se evidenţiază prin coloranţi speciali, ca Sudan III, Sudan IV, Scharlach, care dau o culoare roşie-cărămizie foarte vie; sau cu negrul de Sudan şi acidul osmic care colorează grăsimea în brun-negru. În general, grăsimea din lipocite se găseşte sub formă de grăsime neutră. În unele organe, cum ar fi glanda sebacee, cortexul suprarenal, glanda interstiţială a testiculului şi corpul galben din ovar, în adipocite se întîlnesc şi alte lipide decît grăsimile neutre. Acestea nu mai au tendinţa să formeze globulul mare în citoplasmă, ci rămîn sub formă de picături fine, izolate şi foarte abundente. În citoplasmă se mai întîlnesc: un reticul endoplasmic foarte redus, mitocondrii şi vezicule de diferite mărimi. Fiecare celulă grasă este înconjurată de un fin reticul conjunctiv, de un capilar sanguin şi de fibre nervoase proprii.

Histoenzimologie. Celula adipoasă este foarte bogată în enzime. Cercetări recente (Diculescu şi colab.) au stabilit prezenţa în lipocite a unui spectru enzimatic foarte larg (citocromoxidază, diaforaze, dehidrogenaze legate de NAD şi de NADP, epimeraze, ribonucleaze, nucleozidaze, sulfataze, glucuronidaze,

Scanned with OKEN Scanner

peptidaze şi fosforilaze). Reacţiile enzimatice prezintă varietăţi de intensităţi în lipocitele aceluiaşi teritoriu de ţesut adipos. Grupe de celule grase, enzimatic active, sînt diseminate prin teritorii întregi areactive sau slab reactive. Acest aspect se modifică permanent, intensităţile enzimatice se schimbă continuu de la un lipocit sau un grup de lipocite la altul. Prin acest caracter pendulant al activităţilor enzimatice, celula grasă se aseamănă foarte mult cu fibroblastul din care derivă. Cele mai active enzine în lipocit sînt cele legate de metabolismul hidraţilor de carbon. Utilizarea glucozei de către adipocit se efectuează în cea mai mare parte prin intermediul căii Embden-Mayerhoff, în proporţie mai redusă (aproximativ 6—9%) pe calea şuntului pentozic şi numai printr-un procent infim pe calea acidului glucuronic. Celula grasă este deosebit de sensibilă la nivelul glucozei din mediu, întocmai ca şi celula hepatică. La concentraţii crescute de glucoză în sînge, ea intervine prompt printr-o metabolizare vie a acesteia în vederea restabilirii concentraţiei normale sanguine.

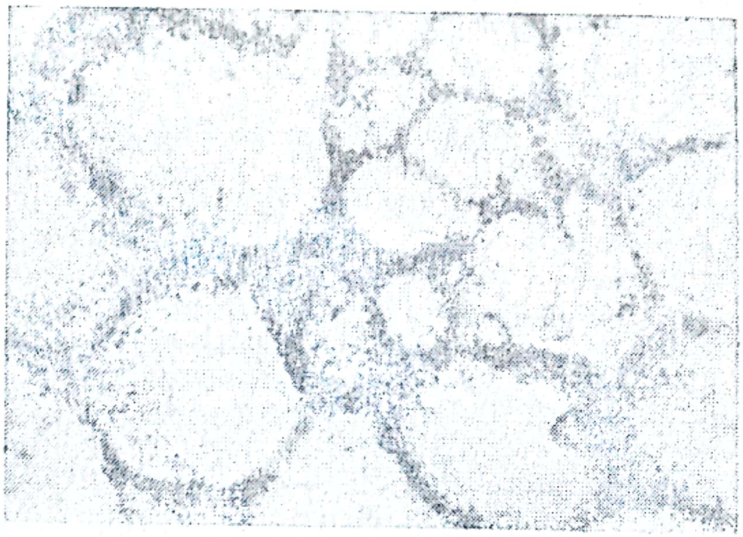


Fig. 90. Ţesut adipos. Reacţie pentru beta-hidroxiacil CoA, pozitivă la periferia lipocitului.

Funcţiile celulei grase. Grăsimea ce se acumulează în lipocit provine în parte din alimente — sursa exogenă, dar în cea mai mare măsură este sintetizată la nivelul fibrocitului şi histiocitului — sursă endogenă.

Lipogeneza. Formarea lipidelor poate avea loc fie intramitocondrial, după unii autori, fie în hialoplasmă, după alţii. Compararea imaginilor histoenzimologice şi electronooptice obţinute în laboratorul nostru, pentru reacţiile NADH-diaforazei şi a dehidrogenazelor legate de NAD (enzime condriomice) cu a celor alfa-glicerofosfat dehidrogenaza (enzimă hialoplasmatică), a permis susţinerea ideii că lipogeneza are loc extramitocondrial, mitocondria reprezintă numai sursa de energie necesară lipogenezei. Celula îşi sintetizează singură acizii graşi, gliceridele şi steroizii necesari.

În acest scop, lipoproteinlipaza, localizată la suprafa celulei grase, este enzima care intervine în procesul de lipogeneză. Ea clivează într-o primă etapă lipoproteinele aduse pe cale sanguină şi într-o a doua etapă hidrolizează gliceridele în acizi graşi şi glicerină care sînt puşi la dispoziţia lipocitului, pentru a sintetiza lipidele proprii.

Paralel cu procesul de lipogeneză în celula grasă există şi un proces de *lipoliză*. Prezenţa la nivelul lipocitului a unei intense activităţi lipazice a beta-hidroxiacil Coenzimei A (fig. 90) şi a beta-hidroxibutirdehidrogenazei (spirala Lynen activă) pledează în acest sens. Cercetările noastre au demonstrat că în

Scanned with OKEN Scanner

procesul de lipoliză intervine activ lipaza, enzimă hormonosensibilă localizată în interiorul adipocitului şi al altor celule conjunctive.

Procesele de lipogeneză şi lipoliză se petrec permanent în celula grasă şi depind de necesităţile locale şi ale organismului, fiind supuse controlului neurohormonal.

Celula adipoasă, ca şi întreg ţesutul adipos sînt *supuse acţiunii diferiţilor hormoni*. Astfel s-a demonstrat pe ţesut adipos in vitro acţiunea lipogenetică a insulinei şi acţiunea lipolitică a hormonilor hipofizari (ACTH, hormonului tireotrop, somatotrop şi a vasopresinei), a hormonilor corticosuprarenali (glico-corticoizi androgeni), a glucagonului şi a catecolaminelor (adrenalina, noradrenalina). Hormonii lipotici acţionează prin activarea lipazei hormonosensibile care hidrolizează lipidele intracelulare.

Inervaţia adipocitului este deosebit de bogată. Au fost puse în evidenţă terminaţii nervoase pe celulă cu ajutorul impregnărilor argentice şi a metodei cu albastru de metilen. Natura inervaţiei lipocitului a putut fi elucidată cu ajutorul tehnicilor histochimice, care au permis observarea fibrelor nervoase adrenergice şi colinergice în jurul celulei grase. Inervaţia colinergică este mai abundentă decît cea adrenergică şi se prezintă sub forma unei reţele bogate în jurul şi pe celula adipoasă. Pe baza acestor observaţii s-a demonstrat accesul direct al activatorilor biologici (acetilcolina şi catecolaminele) la celulele adipoase, pe calea fibrelor nervoase.

Secreţia factorului de clarificare. Totodată lipocitele constituie o sursă de elaborare a factorului de clarificare (lipoproteinlipaza) sanguină. În acest sens pledează atît topografia enzimei (la suprafaţa lipocitelor) cît şi prezenţa hidrolazelor acide şi îndeosebi a nucleazelor la nivelul capilarelor sanguine din vecinătatea lipocitelor (care pot fi puse în legătură cu permeabilizarea endoteliilor acestor capilare pentru macromoleculele de felul lipoproteinlipazei).

Adipocitul, aşa cum reiese, nu mai poate fi considerat o celulă de rezervă, de depozit, ci un element deosebit de activ din punct de vedere metabolic şi o celulă cu rol endocrin.

Un alt tip de adipocit este lipocitul ce alcătuieşte *grăsimea brună.* Celula este de formă poliedrică, iar în citoplasmă grăsimea se află dispersată sub formă de numeroase picături. Mitocondriile sînt în număr mult mai mare decît în lipocitul obişnuit. Activitatea enzimatică este deosebit de bogată, în special cea legată de metabolizarea glucozei. Celula are un conţinut ridicat de citocrom C şi coenzimă A. La nivelul ei se produce o biosinteză activă a acizilor graşi. Celula produce o cantitate mare de căldură, conţinutul în grăsime al celulei nemodificîndu-se nici în stările precare nutriţionale.

CELULA PIGMENTARĂ – PIGMENTOCIT – CROMATOFOR-MELANOCIT

Se întîlneşte în tunica coroidă a globului ocular, în foiţa pia mater din meninge, în straturile bazale ale epidermului, în derm.

Originea. Celulele pigmentare pot lua naştere în timpul dezvoltării intrauterine din crestele neurale (din care se desprind şi celule nervoase ce migrează

în afara sistemului nervos și celulele ganglionilor spinali) sau direct din celulele mezenchimului embrionar. La adult ele se pot forma în țesuturile conjunctive direct din fibrocite prin transformarea și încărcarea lor cu pigment.

Caractere morfologice. Celula are o formă stelată, cu multe prelungiri. Citoplasma, ca și prelungirile celulare sînt încărcate cu granule de pigment, denumite melanozomi. Granulele pot prezenta culori diferite, realizînd pigment negru melanic, pigment roșu întîlnit la animalele inferioare, sau pigment galben care dă denumirea de xantofore sau lipofore celulelor ce îl conțin.

În citoplasmă, în afară de granulele pigmentare se găsesc și organitele comune reprezentate printr-un bogat reticul endoplasmic rugos, un complex Golgi dezvoltat și numeroase mitocondrii. Aceasta arată că celula prezintă o bogată activitate de sinteză, elaborîndu-și singură pigmentul respectiv. Diametrul granulelor melanice variază între 2 800 Å pînă la 10 000—20 000 Å. La microscopul electronic, acestea prezintă o matrice cu densități variabile la fluxul electronic. Melanozomii prezintă uneori un caracter fibrilar de rețea, în ochiurile căreia se găsește situată melanina sub formă de cristale aciculare așezate paralel între ele și paralel cu axul mare al melanozomului. Granulele de melanină conțin substanțe proteice insolubile în apă, în acizi sau în lichidele organice. Ele, însă, pot fi solubile în alcali puternici.

Mecanismul melanogenezei. Pigmentul melanic poate fi sintetizat de către celulă, care primește în acest caz denumirea de melanoblast. Granulele melanozomice se formează pe baza activității ribozomale a reticulului endoplasmic rugos și a complexului golgian. Produsul sintetizat parcurge o serie de etape de maturare, începînd cu forma primară, denumită *promelanozom*, și pînă la forma de granulă de melanină matură observată în celulă, denumită *melanozom*.

Unele celule pigmentare își datorează conținutul în pigment unor procese active de fagocitoză. Celula ce înglobează astfel pigmentul poartă denumirea de melanofor.

Rolul melanocitelor. În general, celulele pigmentare exercită o protecție asupra structurilor subjacente împotriva radiațiilor luminoase și calorice prea puternice. Granulele pigmentare pot fi mobilizate în citoplasmă și în prelungirile celulei, producîd o expansiune a suprafețelor pigmentare sub acțiunea luminii și o restrîngere a lor sub acțiunea întunericului.

MASTOCITUL

Semnalată pentru prima dată de către Ehrlich în 1878, celula a fost considerată ca un depozit pentru anumite substanțe (în special lipide), necesare țesutului învecinat (în limba germană mast=îngrășare); pentru aceasta celulele au primit denumirea de Mastzellen. În urma studiilor biochimice și histochimice celula a mai primit denumirea de heparinocit după principalul produs de elaborare care este heparina. Mastocitul se găsește localizat în mod frecvent în țesutul conjunctiv lax și țesutul conjunctiv submucos, de-a lungul vaselor sanguine; se găsește în număr apreciabil în țesutul conjunctiv intermuscular al

uterului, al vezicii urinare, al limbii; în piele este prezent în atmosfera conjunctivă din jurul foliculilor piloşi, glandelor, vaselor sanguine sau printre celulele grase. Celulele se întîlnesc şi în intestin în jurul glandelor Lieberkühn, în ţesutul nervos, în meninge şi în jurul plexurilor coroide, în glandele cu secreţie internă.

Originea. În timpul vieţii intrauterine, mastocitele apar de timpuriu între a 12-a, a 16-a săptămînă de dezvoltare embrionară. Numărul lor creşte o dată cu evoluţia fătului şi mai ales după naştere. Celula mast primitivă, embrionară, ia naştere din celulele mezenchimului o dată cu apariţia granulelor în aceste celule. După ce a fost obţinut un anumit grad de diferenţiere, activitatea mitotică a celulelor mezenchimale de origine încetează, mastocitul îşi continuă maturizarea prin elaborarea continuă de granule. În citoplasmă se întîlneşte un reticul endoplasmic rugos şi un complex golgian bine dezvoltat, agregate ribozomale neasociate cu membranele şi rare mitocondrii. Celula mast îşi sintetizează singură şi îşi produce granulele caracteristice, elaborînd în primul rînd heparina (polizaharid sulfatat) şi alte proteine bazice. Histamina se elaborează şi apare în celulă numai în faza adultă a acesteia. Primele granule mastocitare, denumite *progranule*, se vor agrega în formaţiuni cu un diametru mai larg de 100 şi peste 100 milimicroni, realizînd *granula matură* înconjurată de o membrană. În acest moment, în citoplasma celulei nu se mai găseşte reticul endoplasmic rugos, zona golgiană e diminuată, granulele sînt numeroase, marcînd maturitatea mastocitului şi inactivitatea sintetică. *La adult, originea mastocitului* este încă o problemă discutată; a) se presupune că celula ar putea lua naştere din leucocitele bazofile, care migrează din sînge în ţesuturile conjunctive; b) se vorbeşte de diferenţierea mastocitului din alte tipuri celulare ale ţesutului conjunctiv; c) pe baza ultimelor cercetări au putut fi observate toate fazele mitozei la nivelul mastocitelor adulte. Aceasta a îndreptăţit admiterea genezei lor din mastocite preexistente. Ultimele două ipoteze sînt cele mai larg admise în prezent pentru a explica originea celulei mast.

Caractere morfologice. Mastocitul are o formă rotundă sau ovală, uneori neregulată în ţesutul conjunctiv lax, alungită de-a lungul vaselor şi cu forme diferite în ţesutul conjunctiv fibros. Diametrul celulei variază între 5 microni şi 25 microni sau chiar mai mare. Întreaga citoplasmă este încărcată cu numeroase granule de formă rotundă şi aspect omogen, avînd un diametru de aproximativ 0,5 microni. De cele mai multe ori, datorită abundenţei lor numerice, acestea acoperă şi maschează nucleul celular şi celelalte organite, care nu mai pot fi observate la un examen obişnuit. Pot fi întîlnite granule şi în afara celulei, în vecinătatea ei, răspîndite pe o oarecare distanţă în substanţa fundamentală înconjurătoare, fapt care a făcut ca să-i fie atribuit celulei (încă de primii cercetători) un rol endocrin. Mărimea, forma şi cantitatea granulelor variază apreciabil de la o specie la alta sau chiar în diferitele ţesuturi ale aceluiaşi animal. Granulele se colorează metacromatic, sînt în general bazofile. Prezintă o reacţie PAS pozitivă, dar foarte slabă. Nucleul celulei este de obicei mare (5 microni), rotund, oval sau de formă neregulată. Cromatina apare sub formă de grunji aşezaţi sub nucleolemă. Nucleul poate conţine 1—2 nucleoli. La microscopul optic se pot examina în citoplasma mastocitului doar granulele şi nucleul.

Scanned with OKEN Scanner

La microscopul electronic au fost identificate în citoplasmă organitele comune, cum ar fi complexul golgian, rare mitocondrii și un reticul endoplasmic și ribozomi liberi. Granulele apar foarte dense la fluxul de electroni, cele mai multe fiind delimitate de o membrană fină. Ele au fost împărțite în două tipuri după caracterul ultrastructural: unele de aspect fin granular, aproape omogene, localizate în special în mastocitele perivasculare, altele cu o structură lamelară concentrică localizate mai ales în celulele răspîndite în țesutul conjunctiv lax. În citoplasma celulei se mai întîlnesc incluziuni de natură diferită, așezate în special lîngă nucleu. Aceste incluziuni apar mai ales în stări patologice locale și în special în tumori și conțin de cele mai multe ori substanțe lipidice. La microscopul cu contrast de fază în citoplasma mastocitului, granulele apar puternic refringente și vacuolele în număr variabil sînt considerate de majoritatea cercetărilor ca artefacte.

Colorabilitate. În țesuturi, mastocitul se recunoaște după granulele metacromatice din citoplasmă, și nu după forma sau alte caractere morfologice ale celulei. De aceea cele mai folosite tehnici pentru studiul mastocitului sînt acelea bazate pe utilizarea coloranților metacromatici, ca albastru de toluidină, violet de metil, violet de gențiana și alții. Mai recent au fost introduse și alte metode ca reacția PAS (periodic acid Schiff), în care granulele din mastocit se colorează inconstant și sînt destul de slab pozitive. Există adesea o relație între metacromazia granulară și reactivitatea la PAS. Granule puternic metacromatice sînt adesea PAS negative, în timp ce granule intens PAS pozitive sînt ortocromatice. Alte tehnici folosesc colorantul Giemsa, Bismark brown, albastru de alcian etc.

Controlul hormonal. Mastocitul este celula conjunctivă care reacționează cel mai puternic la acțiunea hormonilor. Astfel, sub acțiunea tiroxinei, hormonilor corticosuprarenali și estrogenilor, se observă o scădere a numărului de mastocite și un fenomen puternic de degranulare a lor cu modificări disruptive celulare. Dimpotrivă, hormonul somatotrop stimulează activitatea mastocitelor; hormonul tireotrop într-o primă fază are o acțiune directă stimulatoare asupra funcțiilor țesuturilor conjunctive și a heparinocitelor în special. Dacă acțiunea hormonului tireotrop hipofizar se prelungește, scade puternic numărul de mastocite, precum și activitatea lor.

Biochimia mastocitelor. Celulele conțin o serie de substanțe care eliberate intervin activ în biologia tisulară locală și generală.

Mastocitul este celula care sintetizează și secretă heparina. Heparina reprezintă aproximativ 2,7—4,6% din volumul celulei și este localizată pe granulele din citoplasmă. Prezența heparinei, care este un mucopolizaharid acid sulfatat pe aceste structuri, explică fenomenul de metacromazie puternic întîlnit pe granulele mastocitare. *Histamina*, un alt produs de sinteză al mastocitului, se găsește în proporție de 1,1% în celulă localizat de asemenea pe granulele metacromatice legat prin combinații laxe de heparină. Histamina se eliberează ușor din această asociație cu heparina prin intervenția unor substanțe chimice care poartă denumirea de „liberatori de histamină". După eliberare, histamina apare ca un compus liber în țesuturile înconjurătoare și probabil și în sînge. Există o strînsă dependență între numărul de mastocite și nivelul de histamină din țesuturi, atît în stările fiziologice normale cît și în cele patologice.

Scanned with OKEN Scanner

Fig. 91. Mezenter. Reacţia puternică nucleotidazică la nivelul celulelor mastocitare.

Prin aceste două substanţe, heparina şi histamina, sintetizate şi depozitate în mastocit, celula intervine în stările de urgenţă ale organismului, în stările de şoc, cu acţiunea în special asupra modificării permeabilităţii peretelui vascular şi a coagulabilităţii sanguine. În substanţă intergranulară a mastocitului se găseşte un alt compus chimic *5-hidroxi-triptamina sau serotonina,* reprezentînd 0,06% din volumul celular. Ea derivă din triptofan prin decarboxilare. Un alt produs întîlnit în unele mastocite este şi *acidul hialuronic,* ce se află ataşat de granulele din citoplasmă şi care după unii autori este responsabil în mare parte de metacromazia puternică a acestor structuri. Unii cercetători semnalează în mastocitele unor specii animale şi prezenţa *dopaminei* (3-hidroxitriptamina).

Mecanismul de eliberare a acestor produşi încă incomplet elucidat admite existenţa celor trei forme: holocrin, apocrin şi merocrin.

Histoenzimologie. Mastocitul este o celulă care posedă activităţi enzimatice restrînse. În acest sens, studii ale laboratorului de Histologie din Bucureşti asupra mastocitelor din mezenter au arătat că în celulă sînt în special active enzimele lizozomale, nucleotidazele, unele fosfataze, ATP-aza şi unele enzime oxido-reductorii ale glicolizei anaerobe (lacticodehidrogenaza), glutamodehidrogenaza (fig. 91). Mai puţin active sînt enzimele ciclului Krebs, aminoxidazele, diaforazele. În condiţii experimentale s-a observat că sub acţiunea imediată a hormonului tireotrop şi în urma tiroidectomiei se intensifică în mastocit enzimele lizozomale (aminopeptidaza, ribonucleaza şi triptaminoxida), fig. 92, 93.

Fig. 92. Mezenter. Mastocitele prezintă o reacţie puternică pentru aminopeptidază, după administrare de hormon tireotrop.

La acţiunea prelungită a hormonului tireotrop,

Scanned with OKEN Scanner

toate enzimele își diminuă foarte mult activitatea o dată cu reducerea numărului de mastocite din panicul adipos al mezenterului. Sub acțiunea cortizonului scad în general activitățile lacticodehidrogenazei, triptaminoxidazei. Rămîn staționare aminopeptidaza, ribonucleaza.

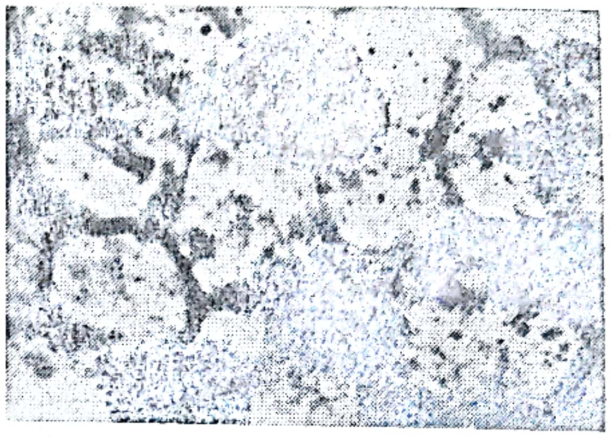


Fig. 93. Reacție intensă pentru triptaminoxidază în celulele mastocitare din mezenter după acțiunea hormonului tireotrop.

Rolul mastocitului. Aceste rezultate au permis presupunerea existenței unor funcții cu totul speciale la nivelul mastocitului. În afară de intervenția lui bine cunoscută în stările excepționale de șoc, prin eliberarea histaminei și heparinei, mastocitul ia parte în mod sigur și în activitatea metabolică obișnuită a țesutului în care se găsește. Astfel, prin activitatea bogată în nucleosidaze, pirofosfataze și ribonucleaze, celula poate fi implicată în acțiunea de mediere a influențelor hormonale asupra activității secretorii (heparină, histamină și serotonină). Mastocitul participă la metabolismul adipocitului într-un mod multiplu și complex, controlînd procesele lipogenetice care au loc în adipocit. Astfel, heparina de origine mastocitară poate fi utilizată de lipocit pentru activarea sau chiar pentru sinteza lipoproteinlipazei, enzimă foarte activă la nivelul celulei grase. Activitatea crescută a unor enzime lizozomale sub acțiunea cortizonului (care insolubilează membranele lipoproteice, printre care și cele lizozomale) arată că în condiții normale, membranele lipoproteice ale mastocitului pot fi deschise pentru moleculele organice mai mari, cum ar fi heparina, nucleotizii, etc. Aceste substanțe pot ușor să ajungă la suprafața lipocitelor și să activeze sau să inhibe diferitele procese metabolice lipidice. De asemenea, 5-hidroxitriptamina mastocitară pare să constituie sursa principală de amine biogene necesare controlului proceselor lipolitice (a lipazei hormonosensibile).

Cercetările dovedesc de asemenea că mastocitul este în contact strîns cu filetele nervoase adrenergice și cu filetele nervoase colinergice. Raporturile strînse dintre mastocite și capilarele sanguine, filetele nervoase și influențele hormonale dovedesc că mastocitul poate fi considerat o celulă care exercită un control asupra activității tuturor celulelor țesutului conjunctiv.

SUBSTANȚA FUNDAMENTALĂ

Este componenta amorfă a țesutului conjunctiv ce ocupă spațiul liber dintre fibrele și celulele conjunctive. Poate fi studiată din punct de vedere morfologic, biochimic și funcțional.

Proprietățile morfologice ale substanței fundamentale sînt puțin cunoscute. Substanța fundamentală se prezintă ca un gel amorf ce impregnează și aderă la

trama fibrilară. La microscopul optic are un aspect omogen, iar la microscopul electronic apare formată din proteine globuloase dispuse destul de ordonat, precum şi din proteine filamentoase, aşezate în unele zone sub formă de reţea. S-au descris pe alocuri vacuole inframicroscopice de densităţi diferite şi de natură discutabilă. În interfeţele substanţei fundamentale cu trama fibrilară se realizează spaţii submicroscopice cu rol important în circulaţia lichidului tisular în ţesutul conjunctiv.

Proprietăţile biochimice. În componenta substanţei fundamentale se găsesc următoarele elemente: lichidul tisular în proporţie de 70%, substanţele mucopolizaharidice în proporţii ce variază între 5 şi 20%, proteinele, aproximativ 25%.

Lichidul tisular se compune din *apă* şi *electroliţi.* Este foarte asemănător plasmei sanguine din care derivă, fiind socotit un transudat; diferă însă de plasma sanguină prin conţinutul mai scăzut în proteine, prin instabilitatea cantităţii de apă, de săruri şi de glucoză şi prin capacitatea pe care o are lichidul tisular de a acumula aceşti produşi şi de a-i elibera în anumite stări fiziologice şi fiziopatologice. *Apa* din lichidul tisular se găseşte în proporţia cea mai mare ca *apă liberă* în continuă mişcare şi modificare; apă captivă sau *legată* în cea mai mare parte de gelul substanţei fundamentale poate deveni liberă numai în condiţiile unei depolimerizări crescute a substanţelor mucopolizaharidice din substanţa amorfă; *apa moleculară sau submoleculară* este foarte strîns legată de structurile celulare şi tisulare prin legături chimice puternice şi nu poate fi mobilizată. În lichidul tisular se întîlnesc *ioni* diferiţi, dintre care Na în concentraţia cea mai ridicată, în special sub formă de ClNa. Prin variaţiile concentraţiilor sale influenţează mişcarea lichidului extracelular, precum şi schimbul dintre celulă şi mediul înconjurător. În cantităţi mai mici se întîlnesc şi alţi ioni ca K^+, Mg^{++} etc. Concentraţia lor în substanţa fundamentală poate spori în perturbări metabolice locale, dar mai ales după creşterea concentraţiei lor în sînge. În lichidul tisular mai pot apărea metaboliţi, ca uree, glucoză, unele substanţe elaborate de celulele conjunctive, sau substanţe provenite direct în sînge.

Substanţele mucopolizaharidice sînt corpi organici complecşi în constituţia cărora intră hexozele simple, dar mai ales sub formă de compuşi nucleotid-hexozici (glucoza, galactoza, acidul glucuronic, combinaţi cu uridinfosfatul). Deşi substanţele mucopolizaharidice se găsesc în proporţie destul de mică în ţesuturile conjunctive, ele au putut fi studiate în detaliu şi a putut fi urmărit foarte bine metabolismul lor, datorită unor tehnici care le fac uşor evidenţiabile. Principalele mucopolizaharide din substanţa fundamentală sînt: mucopolizaharidele acide, mucopolizaharidele neutre sau complexe de proteine şi polizaharide.

Mucopolizaharidele acide sînt bazofile, metacromatice şi uşor digerate de enzime, în special de hialuronidază. Sînt prezente în proporţii diferite în toate tipurile de ţesuturi conjunctive: 0,5—5% în ţesutul conjunctiv dens, în derm, în aortă sau mult mai abundente pînă la 20% în cartilajul hialin. Mucopolizaharidele acide sînt mai abundente în substanţa fundamentală din ţesuturile conjunctive tinere; pe măsura îmbătrînirii organismului, ele scad, cedînd locul elementelor fibroase conjunctive. Mucopolizaharidele acide se împart în două

grupe *MPZ acide simple nesulfatate* — din care fac parte acidul hialuronic și condroitinic — și *MPZ acide complexe sulfatate* — în care se grupează condroitinsulfații, keratosulfații și heparinsulfații.

Acidul hialuronic se găsește în proporție mare în cele mai multe tipuri de țesuturi conjunctive. A fost izolat din cordonul ombilical, umoarea apoasă, lichidul sinovial. Acidul hialuronic prezintă fenomenul de metacromazie, mai puțin net și într-un grad mai redus decît compușii sulfatați. Este atacat de hialuronidază. Formele sale de polimerizare par a fi globulare și foarte solvatate. Formele foarte polimerizate sînt sub formă de lanțuri lungi de aproximativ 0,4—0,8 microni.

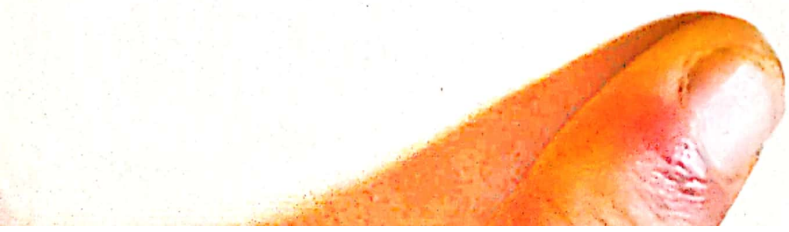
Condroitinul se găsește numai în cornee.

Condroitinsulfații au fost izolați din cordonul ombilical; se găsesc răspîndiți din abundență în țesuturile conjunctive și cartilaginoase. Ei sînt de trei feluri: condroitin sulfat A (CSA), condroitin sulfat B (CSB) și condroitin sulfat C (CSC). CSA este distribuit în special în substanța fundamentală din cartilaj, os, cornee, aortă, ligamentul celular. CSC a fost identificat în cartilaj, tendon; CSB lipsește din țesutul cartilaginos și osos, dar este prezent în dermul pielii, în aortă, în tendoane și valvulele cardiace. CSB crește pe măsură ce organismul îmbătrînește. Cele trei tipuri de controitinsulfați (A.B.C.) diferă între ele prin solubilitate, rotație optică și rezistență la hialuronidaze (forma A și C sînt atacate de enzimă, forma B este rezistentă la enzimă). De curînd a fost pus în evidență și un al patrulea tip de condroitinsulfat, denumit forma D (CSD) care prezintă un spectru în infraroșii identic cu al CSC, dar se deosebește de acesta prin conținutul mai ridicat în sulf și prin comportamentul diferit față de enzime al celor doi polizaharizi componenți.

Keratosulfații sînt prezenți în cornee și în nucleul pulpos. În general au o structură încă incomplet elucidată. Cresc mult în stările patologice ale țesutului conjunctiv.

Heparinsulfații secretați în special de mastocite sînt în cantitate variabilă în substanța fundamentală. În bună parte sînt cunoscute proprietățile lor, dar rămîn încă puncte neclare asupra structurii acestor compuși.

Mucopolizaharidele neutre. Nu sînt bazofile, nu prezintă fenomenul de metacromazie, nu sînt sulfatate, rezistă la acțiunea hialuronidazei. Au fost izolate din substanța fundamentală a tendonului, a cartilajului, a osului. Ei reprezintă combinații labile de proteine și polizaharide. În această categorie intră mucoproteinele, glicoproteinele. În general, substanțele mucopolizaharidice se prezintă sub formă de macromolecule filamentoase așezate în rețea, sau sub formă de macromolecule globuloase, așezate în ochiurile rețelei, conferind astfel țesutului conjunctiv o rezistență mare la presiune și frecare. În substanța fundamentală pot apărea mucopolizaharide sub formă de molecule de talie mică, dispersate de o cantitate de apă crescută, realizînd starea de depolimerizare a substanței amorfe (starea de sol). În cazul cînd numărul macromoleculelor este foarte dens, cantitatea de lichid este mai redusă și se obține o stare puternic polimerizată a substanței fundamentale, o stare de gel. În mod normal există o continuă trecere de la o stare la alta la nivelul substanței fundamentale, determinînd variații în metabolismul local și viteze de mișcare diferite ale lichidului tisular.



Scanned with OKEN Scanner

Proteinele din substanţa fundamentală sînt mai puţin cunoscute. O treime din ele sînt libere, o treime slab legate de mucopolizahariде şi o altă treime puternic legate de mucopolizahariде; unele proteine conţin acizi aminaţi aromatici cum sînt triptofanul şi tirozina. Proteinele substanţei fundamentale provin în proporţie mare din proteinele plasmatice, fiind în special reprezentate prin globuline. În afara circulaţiei, în lichidul tisular se pot găsi mai mult de jumătate din proteinele plasmatice. O bună parte din ele sînt vehiculate mai departe către circulaţia limfatică, foarte puţine rămânînd în substanţa fundamentală, unde pot servi ca material de bază pentru noi sinteze în celulele conjunctive. Lipsa unor acizi aminaţi poate duce la alterarea substanţei fundamentale şi la unele boli, printre care şi pelagra.

Proprietăţile fiziologice. 1) *Viscozitatea.* Este dependentă de concentraţia în substanţe mucopolizaharidice şi de proteine a substanţei fundamentale. Cînd mucopolizaharidele sînt slab polimerizate, apar foarte dispersate în lichidul tisular, determină o viscozitate redusă datorită conţinutului crescut de apă din substanţa fundamentală. O polimerizare puternică realizează o viscozitate crescută, substanţa fundamentală este foarte refringentă şi este săracă în apă. Gradul de polimerizare condiţionează starea fiziologică, fiziopatologică, rezistenţa mecanică şi vîrsta substanţei fundamentale. Unele maladii, printre care boala reumatismală, are la bază un fenomen accentuat de polimerizare a substanţei fundamentale de la nivelul articulaţiilor osoase, valvulelor cardiace, vase. Pe acest considerent, în aceste boli se instituie un tratament dipolimerizant realizat de unii hormoni, ca: cortizonul, — hormon produs de corticosuprarenală, ACTH-ul, — hormon anterohipofizar, foliculina secretată de ovar. O situaţie inversă este întîlnită la nivelul simfizei pubiene, care în mod normal constituie o articulaţie imobilă datorită unei polimerizări crescute a substanţei fundamentale. La femei, însă, către sfîrşitul sarcinei, se produce un fenomen de depolimerizare articulară, în vederea expulziei fătului. Printre hormonii şi vitaminele de acţiune, de data aceasta polimerizată, citäm: hormonul testicular, tiroidian, vitamina C.

2. *Rolul substanţei fundamentale în metabolismul apei din organism.* Substanţa fundamentală este socotită a fi cel mai mare rezervor de apă, conţinînd 1/3 din întreg lichidul corpului omenesc. Lichidul tisular este în continuă mişcare, viteza de circulaţie depinzînd de gradul de depolimerizare a substanţelor mucopolizaharidice. În mod normal se stabileşte un echilibru între presiunea plasmei sanguine şi a lichidului tisular. Dacă presiunea sanguină creşte şi retenţia osmotică a proteinelor plasmatice este scăzută, apa va trece în cantităţi crescute din capilare înspre substanţa fundamentală. O presiune crescută a lichidului tisular, împreună cu o retenţie osmotică puternică a proteinelor plasmatice, va face ca sensul curentului să crească către interiorul vaselor. Presiunea hidrostatică din vase descreşte către vasele de calibre mici, către capilare. Presiunea hidrostatică este deosebit de scăzută în capilare, dar datorită peretelui subţire al acestora, rămîne o forţă suficientă care permite ieşirea apei prin endoteliu. Capilarele sînt sursa principală a lichidului tisular. Resorbţia lichidului tisular se face la nivelul venelor şi a vaselor limfatice. Unul din factorii care intervin activ în acest proces este presiunea osmotică a sîngelui care este superioară presiunii lichidului tisular. În acelaşi timp şi

Scanned with OKEN Scanner

presiunea hidrostatică este scăzută în vene, favorizînd circulația apei dinspre țesuturi către sînge. Cînd echilibrul presiunilor se tulbură, apa este reținută în țesuturi, respectiv în substanța fundamentală, dînd starea ce poartă denumirea de *edem*. Aceasta poate să ia naștere în caz de presiune hidrostatică crescută în capilarele sanguine, în obstrucții la nivelul circulației limfatice, la o presiune osmotică scăzută în vene sau în caz de permeabilitate crescută a endoteliului capilar.

3. *Rezervor de serumproteine*. Ajunse din sînge de unde provin în lichidul tisular se reîntorc în vasele sanguine nu direct, ci prin intermediul circulației limfatice. O cantitate mică de serumproteine suferă o degradare locală, dînd naștere la polipeptide sau molecule de aminoacizi, necesare noilor sinteze celulare. Serumproteinele se pot acumula în mod tranzitoriu în substanța fundamentală. Această acumulare este masivă și de lungă durată numai în unele stări patologice ale țesutului conjunctiv.

4. *În reacțiile imunologice*. Prin proteinele plasmatice omologe și heterologe care acționează ca anticorpi și antigeni endogeni, substanța fundamentală participă la fenomenele de apărare a organismului.

5. *Funcția mecanică*. Presiunea lichidului tisular exercită o contrapresiune celei hidrostatice sanguine; constituie o frînă în deplasările fibrelor pe care le înconjură; contribuie la determinarea formelor anatomice prin aspectul polimerizat sau depolimerizat; absoarbe forțele mecanice pe macromoleculele globuloase și filamentoase de acizi condroitinsulfurici. Acestea au un aranjament asemănător moleculelor de cauciuc; de aceea ele sînt rezistente la tracțiuni și presiuni.

6. *Alte proprietăți*. Se colorează cu coloranți metacromatici (albastru de toluidină) cu tehnica PAS și prezintă o reacție pozitivă de intensități diferite în funcție de starea fiziologică locală.

În concluzie, substanța fundamentală intervine în funcționarea normală a organismului, în metabolismul tuturor organelor și țesuturilor ce alcătuiesc corpul omenesc.

Originea. Substanța fundamentală se formează în cea mai mare parte din activitatea celulelor țesutului conjunctiv (mucopolizaharide și unele proteine), precum și din proteinele și transudatul plasmei sanguine. Substanța fundamentală apare în țesutul conjunctiv numai după ce s-au format celulele conjunctive (fibroblast histioblast) care vor elabora apoi compușii de bază ai acesteia. Mastocitul poate interveni și el pentru elaborarea unor compuși sulfatați ai substanței fundamentale.

FIBRELE CONJUNCTIVE

În țesutul conjunctiv se deosebesc trei categorii de fibre: de colagen, de reticulină și elastice. Deși diferite ca aspect la microscopul optic, cercetările moderne de microscopie electronică și biochimie au stabilit că între ele există o mare asemănare ultrastructurală și de componență în aminoacizi.

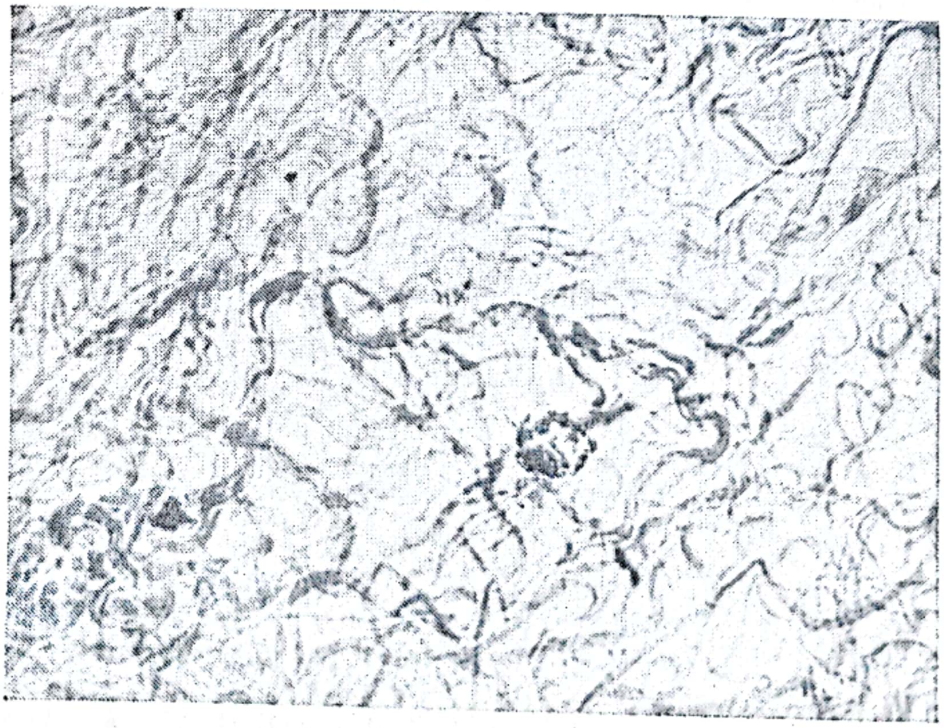
Scanned with OKEN Scanner

FIBRELE COLAGENE

Denumite după culoarea lor şi fibrele albe, să găsesc prezente în toate tipurile de ţesuturi conjunctive.

Caractere morfologice. La microscopul obişnuit apar ondulate, orientate în direcţii diferite; ele se încrucişează în toate sensurile şi par astfel aşezate în reţea, cu toate că fibra colagenă nu se ramifică şi nu se anastomozează (fig. 94). Diametrul lor este variabil, în medie de 10—15 microni şi chiar mai mare. Fiecare fibră este un mănunchi gros format din elemente componente mai fine, cu un diametru de 0,3—0,5 microni, numite *fibrile*, aşezate paralel între ele; numărul lor este variabil de la o fibră de colagen la alta. Între fibrile există o substanţă de legătură (un fel de ciment ce conţine mucopolizaharide şi foarte puţine proteine). Microscopul electronic a stabilit că fiecare fibrilă, la rîndul ei, este alcătuită din subunităţi numite *protofibrile* cu un diametru de 200—400 Å (10—20 milimicroni), avînd un aspect ultrastructural caracteristic, reprezentat printr-o periodicitate axială, care se repetă la fiecare 640 Å (fig. 95). Fiecare perioadă de 640° este compusă dintr-o bandă clară şi o bandă întunecată ce se succede într-o ordine perfectă în lungul protofibridelor. Natura acestor benzi este incomplet clarificată. Se pare a fi datorată fie unei cantităţi de apă mai crescută în benzile clare şi a unei concentraţii de proteine mai mari în benzile întunecate, fie unui aranjament diferit al lanţurilor de aminoacizi care intră în compoziţia fibrelor de colagen.

Fig. 94. Fibrele colagene, col. H.E.



Scanned with OKEN Scanner

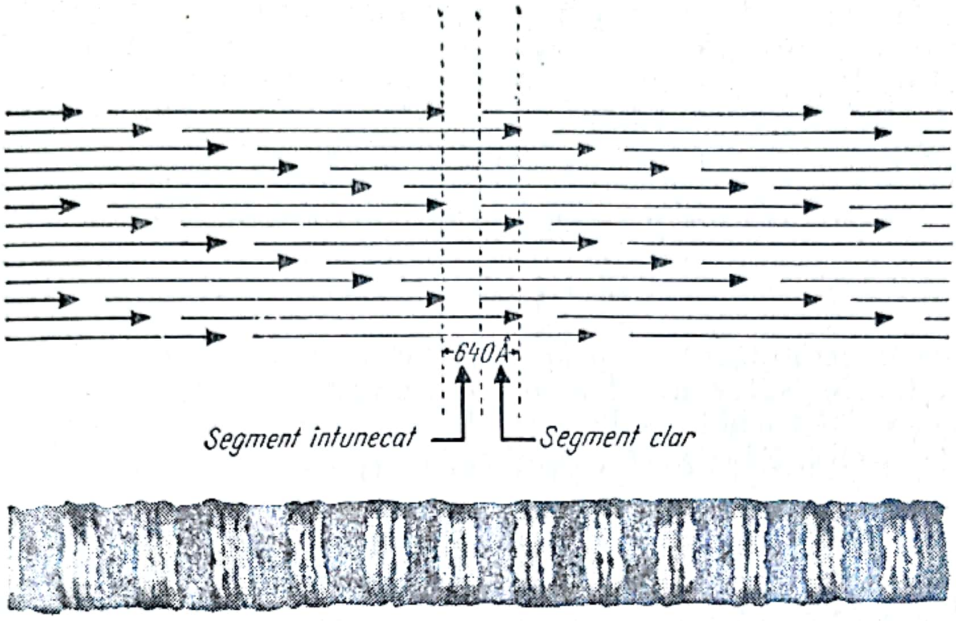


Fig. 95. Protofibrilă de colagen. Imagine electronooptică

Caractere biochimice. Fibra conjunctivă este alcătuită din macromoleculele proteice, denumite molecule de colagen; acestea iau naștere prin agregarea moleculelor de *tropocolagen*, care au diametrul de 10—15 Å, o lungime de aproximativ 2 800 Å și cu greutatea moleculară de 340 000. Moleculele de tropocolagen se unesc prin capetele lor și se așază în șiruri paralele în molecula de colagen. Tropocolagenul este o moleculă proteică foarte solubilă, în timp ce colagenul este o proteină insolubilă și numai în cazuri excepționale se poate disocia. Tropocolagenul se află atît în fibroblast unde se sintetizează, cît și în afara celulei unde se polimerizează pentru a forma molecula de colagen. Colagenul se găsește numai extracelular în fibră conjunctivă.

Fiecare moleculă de tropocolagen este formată din trei *lanțuri polipeptidice*, răsucite între ele elicoidal întocmai ca și fibrele într-o frînghie. Aceste trei lanțuri polipeptidice sînt unite între ele prin punți laterale de hidrogen. Prin fierbere la temperaturi peste 40°C, sau prin tratare cu brom, uree, litiu, la temperatura camerei, aceste punți de hidrogen dintre lanțurile polipeptidice se rup, molecula de tropocolagen se desface în subunități care au fost obținute prin ultracentrifugare și care au fost denumite *componentele alfa și beta*. Fiecare componentă prezintă la rîndul ei două variante notate cu 1 și 2 ($alfa_1$, $alfa_2$ sau $beta_1$, $beta_2$). De curînd este semnalată și o a treia componentă în molecula de tropocolagen, notată cu litera gama, obținută tot prin ultracentrifugare. Componenta alfa cu o greutate moleculară de 120 000 ar reprezenta unul din cele trei lanțuri polipeptidice ale moleculei de tropocolagen ce s-a detașat, iar în componenta beta, cu o greutate moleculară dublă de 230 000—290 000, ar fi celelalte două lanțuri polipeptidice ale moleculei de tropocolagen. Fiecare lanț polipeptidic este format din *aminoacizi* reprezentați prin 1/3 glicină, 1/3 prolină și hidroxiprolină și 1/3 alți aminoacizi,

Scanned with OKEN Scanner

printre care hidroxilizina, valina, serina, leucina etc. Aminoacizii se unesc între ei prin capetele lor, realizînd legături covalente foarte solide. În fiecare moleculă de tropocolagen există o secvenţă aminoacidă obligatorie, glicina — prolina — hidroxiprolina, pe lîngă care se ataşează şi ceilalţi aminoacizi.

În concluzie, proteinele de colagen prezintă următoarele caracteristici: 1) compoziţia specifică în aminoacizi (sînt singurele în organism) care conţin hidroxiprolină şi hidroxilizină; 2) periodicitatea de 640° caracteristică protofibrelor cu alternanţă de benzi clare şi întunecate; 3) structura elicoidală a moleculei de colagen; 4) colagenul este atacat de o enzimă caracteristică, numită colagenaza.

Metode de evidenţiere şi unele caracteristici ale fibrelor de colagen. Prin fierbere, fibrele colagenice dau un clei, numit gelatină, acizii şi alcalii în concentraţie slabă umflă şi disociază fibrele de colagen, în concentraţie puternică le dizolvă. Fibrele de colagen sînt uşor atacate de pepsină, rezistă bine la enzimele pancreatice. Sînt slab reactive cu metoda PAS. După acţiunea colagenazei care atacă substanţa interfibrilară, nu şi fibrele, reacţia PAS devine mai puternică. Acest fapt este datorit prezenţei în substanţa de legătură dintre fibrilele ce intră în componenţa fibrei de colagen a unor compuşi glicoproteici. Fibrele de colagen se colorează în roşu aprins cu fuxina acidă din coloraţia Van Gieson, în albastru luminos cu albastru de anilină sau cu albastru de metilen, în roz cu eozina din coloraţia HE sau în galben-brun prin metoda impregnărilor cu metale grele. Fibrele sînt birefringente în lumina polarizată. Datorită legăturilor longitudinale puternice de natură chimică, a polipeptidelor din moleculele de colagen, fibrele sînt foarte rezistente la tracţiuni mecanice. Slabele legături laterale dintre fibrile permit, în cazuri patologice, acumularea de lichide, constituind edemul. În industria tăbăcăriei se urmăreşte consolidarea acestor legături prin taninuri, sau săruri de crom. Fibra de colagen poate prezenta un oarecare grad de extensibilitate ce se realizează pe seama benzii clare care se măreşte de la 320 Å la 1 000—1 200 Å. Sub acţiunea căldurii, fibra de colagen se poate contracta şi reduce pînă la 1/3 din lungimea sa. Fenomenul este reversibil numai în cazul în care contracţia nu este prea puternică. În caz contrar pot avea loc rupturi de grade variabile ale punţilor secundare de legătură ale aminoacizilor.

FIBRELE DE RETICULINĂ

Sînt fibre subţiri (monofibrilare) cu un diametru între 0,2 şi 1 microni. Ele se ramifică şi se anastomozează sub formă de reţele, care în unele organe pot lua forme ordonate radiare sau grilajate (ficat). Fibrele de reticulină se găsesc în proporţie mare în organele limfopoetice, unde alcătuiesc reţeaua de susţinere, în membranele bazale, în jurul fibrelor musculare; se întîlnesc frecvent în ţesutul conjunctiv lax. Fibrele de reticulină au fost considerate multă vreme cu structuri şi funcţii complet diferite de cele colagenice. Microscopul electronic prin stabilire la nivelul lor a periodicităţii caracteristice de 640 Å întîlnite la colagen şi a unei compoziţii asemănătoare în aminoacizi a permis omologarea lor cu fibrele de colagen foarte tinere; au fost astfel denumite *fibre precolagenice*. Fibre de reticulină sînt foarte abundente la făt şi

Scanned with OKEN Scanner

nou născut, iar la adult se transformă în cea mai mare parte în fibra colagen. Fibrele de reticulină sînt argirofile, de aceea se evidențiază în mod special prin tehnica impregnărilor argentice în brun-închis; sînt intens PAS pozitiv, fapt care le deosebește de fibra de colagen datorită, probabil, asocierii fibrei de reticulină cu o cantitate mai mare de compuși hidrocarbonați. Fibrele de reticulină nu se colorează prin metoda Van Gieson; nu sînt birefringente în lumina polarizată; sînt ușor extensibile, dar nu elastice.

FIBRELE ELASTICE

Denumite și fibrele galbene se întîlnesc în proporție mai redusă decît fibrele colagene în țesuturile conjunctive obișnuite, dar sînt mai abundente în cartilajul elastic și în unele membrane, numite membrane elastice. Se pot organiza în lame elastice groase ca cele întîlnite în media aortei sau în cornee. Fibrele elastice sînt monofibrilare cu diametru redus (mai puțin de un micron pînă la cîțiva microni). Sînt puternic refringente în comparație cu fibrele colagene și fibrele de reticulină. Cînd se rup, capătul lor se îndoaie sub formă de cîrlig. La microscopul electronic apar mai mult omogene, deoarece la nivelul protofibrilelor nu a fost observată periodicitatea întîlnită la celelalte două categorii de fibre conjunctive. Proteina ce intră în constituția fibrei elastice poartă denumirea de *elastină,* fiind alcătuită, ca și molecula de colagen, din glicină și prolină în concentrații mari. Diferă însă prin cantitatea de hidroxiprolină care în colagen este de aproximativ 10—12 ori mai mare decît în elastină și prin predominanța în colagen a lanțurilor polipeptidice cu aminoacizi polari. În elastină predomină valina și aminoacizii nepolari cu catenă lungă, ceea ce explică în parte particularitățile de colorabilitate și proprietatea elastică a fibrei. Identitatea cu celelalte două categorii de fibre s-a dovedit însă la nivel molecular prin stabilirea dispoziției elicoidale a lanțurilor polipeptidice componente.

Fibrele elastice se colorează în brun-roșcat cu orceina, în albastru-închis cu rezorcin-fuxina (fuxilina Weigert), în albastru-deschis cu albastru de anilină. În stare proaspătă au o culoare galbenă, de unde și denumirea dată acestor fibre. Sînt insolubile în apă, foarte rezistente la alcool, eter, foarte greu solubile în acizi și baze. Nu sînt în general atacate de enzimele digestive, ci numai foarte slab de pepsină. Pot fi digerate de elastaza din sucul pancreatic. Principala calitate a fibrelor elastice este posibilitatea de extensie și de revenire la forma de repaus — *elasticitatea.* Pot suporta o tracțiune pînă la 20 kg/cm. Elasticitatea fibrei descrește cu vîrsta, dispărînd aproape complet la bătrîni. Pe măsura înaintării în vîrstă, fibra elastică suferă modificări prin faptul că se poate încărca cu săruri de calciu pînă la o proporție de 14% sau prin modificări în componența acizilor aminați. Fibra elastică distrusă nu se regenerează, ea este înlocuită prin fibre colagene, ceea ce explică lipsa de suplețe a cicatricilor.

Originea fibrelor conjunctive (fibrilogeneza). Moleculele de colagen și elastice componente ale firelor conjunctive se sintetizează în *fibroblast* prin meca-

Scanned with OKEN Scanner

nisme similare altor proteine, adică la nivelul ribozomilor reticulului endoplasmic rugos. Fiind o moleculă mare, sinteza colagenului are loc pe poliribozomii mari, fiind necesari aproximativ 100 ribozomi pentru formarea unei singure molecule. Moleculele de tropocolagen sintetizate la nivelul rizozomilor sînt vehiculate către zona ectoplasmică a fibroblastului, unde se schiţează un început de aranjament fibrilar. Din zona periferică celulară, materialul sintetizat este trecut în mediul extracelular, unde are loc agregarea macromoleculelor de tropocolagen solubil în moleculele de colagen insolubile şi polimerizarea acestora sub formă de fibră conjunctivă. În procesul de formare a colagenului este absolut necesară prezenţa acidului ascorbic care intervine probabil în faza de trecere a prolinei active către hidroxiprolina activă, a trecerii tropocolagenului din celulă în mediul extracelular. De aceea acidul ascorbic este indicat în fazele de refacere a plăgilor (fibrilogeneză). Lipsa lui împiedică sinteza de colagen în fibroblast şi în acelaşi timp sinteza de mucopolizaharide necesare substanţei fundamentale. În procesul fibrilogenezei, rolul principal revine deci fibroblastului care va prezenta un reticul endoplasmic bine dezvoltat cu numeroşi ribozomi ataşaţi de citomembrane şi liberi, un complex golgian mult mărit, mitocondrii numeroase cu creste multiple. Formarea fibrei de colagen se efectuează în următorii timpi: 1) sinteza tropocolagenului la nivelul poliribozomilor; 2) segregarea şi concentrarea în sistemele golgiene a materialului sintetizat; 3) eliberarea din celulă, mecanism încă neclar. S-au semnalat în această fază dezintegrări celulare apreciabile, cu membrane citoplasmatice rupte în special în dreptul zonei de condensare a microfibrelor; 4) polimerizarea în mediul extracelular.

MEMBRANELE BAZALE

Se găsesc situate de obicei între ţesutul epitelial şi ţesutul conjunctiv sau la nivelul endoteliului capilar, grosimea lor variind de la organ la altul; în trahee şi cornee sînt foarte groase, pot fi observate la microscop şi fără o colorare prealabilă; în piele, în ţesuturi şi rinichi sînt foarte subţiri; în vezica urinară şi tiroida persoanelor tinere au un diametru extrem de redus, pe alocuri putînd chiar lipsi. Dau reacţia PAS pozitivă.

Membranele bazale sînt formate din substanţă fundamentală şi fibre de reticulină. La formarea substanţei fundamentale intervine ţesutul conjunctiv prin elementele sale celulare. Acesta este un fapt stabilit pentru membranele bazale ale capilarelor sanguine, origine admisă pînă de curînd şi pentru toate membranele epiteliale.

În urma cercetărilor recente prin tehnici de imunofluorescenţă, s-a văzut că antigenii substanţei fundamentale din membranele bazale epiteliale nu sînt asemănători antigenilor găsiţi în ţesutul conjunctiv, ci antigenilor aflaţi în celulele epiteliale. Studiile de autoradiografie au arătat în plus că celulele epiteliale joacă un rol major în elaborarea substanţei amorfe din membranele bazale şi ar conţine în citoplasmă macromolecule de carbohidraţi care se evi-

Scanned with OKEN Scanner

denţiază cu metoda PAS. Deci, substanţe fundamentală a membranelor bazale epiteliale ar avea fie origine endodermică, fie endomezodermică. Pentru membranele bazale endoteliale, deşi în discuţie încă, originea lor mezodermică pare a fi certă. Fibrele de reticulină aparţin componentei conjunctive. Numărul lor variază în diferite membrane bazale. La aceasta se adaugă pe alocuri în membranele mai groase şi rare fibre colagenice extrem de fine (100 Å) situate în spaţiul în spre corion. Între membrana plasmatică a celulelor şi membranele bazale există un spaţiu clar de aproximativ 100 Å. Acesta se continuă cu spaţiile intercelulare, fiind închis către polul apical al celulelor epiteliale de bandelete obturante. În acest spaţiu circulă lichidul tisular; uneori, în spaţiile mai largi subcelulare pot apărea şi elemente polinucleare. Spaţiul bazal poate să se mărească prin acumulare de lichid.

Rolul membranelor bazale. Constituie un suport mecanic pentru epitelii şi endotelii. Asigură soliditatea peretelui capilar şi constituie un factor de rezistenţă la presiunea hidrostatică sanguină. Totodată controlează mişcarea lichidelor inclusiv a substanţelor trofice datorită prezenţei mucopolizaharidelor din substanţa amorfă. Gradele variabile de polimerizare ale acestora antrenează variaţii structurale, fiziologice şi fiziopatologice locale. În fenomenul de permeabilitate locală, membranele bazale sînt socotite a fi un filtru selectiv cu caracter special. Permeabilitatea este independentă de gradul de polimerizare a substanţei fundamentale şi de prezenţa la nivelul membranelor bazale a ionului de calciu. Membranele bazale pot depozita însă cantităţi foarte mari de carbonat şi fosfat de calciu, de siliciu şi alţi compuşi. Aceştia reprezintă depuneri patologice. Membranele bazale trebuie deci considerate ca formaţiuni deosebit de active, ce intervin în metabolismul local al ţesutului conjunctival şi epitelial.

CAPILARELE VASCULARE

Capilarul vascular reprezintă o diferenţiere a ţesutului conjunctiv, în structura lui întîlnindu-se cele trei elemente componente (celule, fibre, substanţă fundamentală). Capilarul vascular este prezent în orice varietate de ţesut conjunctiv, luînd parte activă la metabolismul acestuia.

Capilarele vasculare nu pot fi observate cu ochiul liber, ci numai la microscop, diametrul lor fiind situat între 10 şi 30 microni. În unele ţesuturi se întîlnesc vase capilare de calibru şi mai redus (aproximativ 5—6 microni) care conţin rare hematii deformate sau numai plasmă sanguină. În organism reţeaua de capilare este foarte abundentă, numărul lor însă este variabil de la un ţesut sau organ la altul.

Structura şi ultrastructura. Peretele capilarului este compus din următoarele elemente structurale: endoteliu; membrana bazală; pericite.

Endoteliul capilar este format din celule de origine conjunctivă turtite alungite în sensul axului lung al capilarului, aşezate pe un singur rînd pe membrana

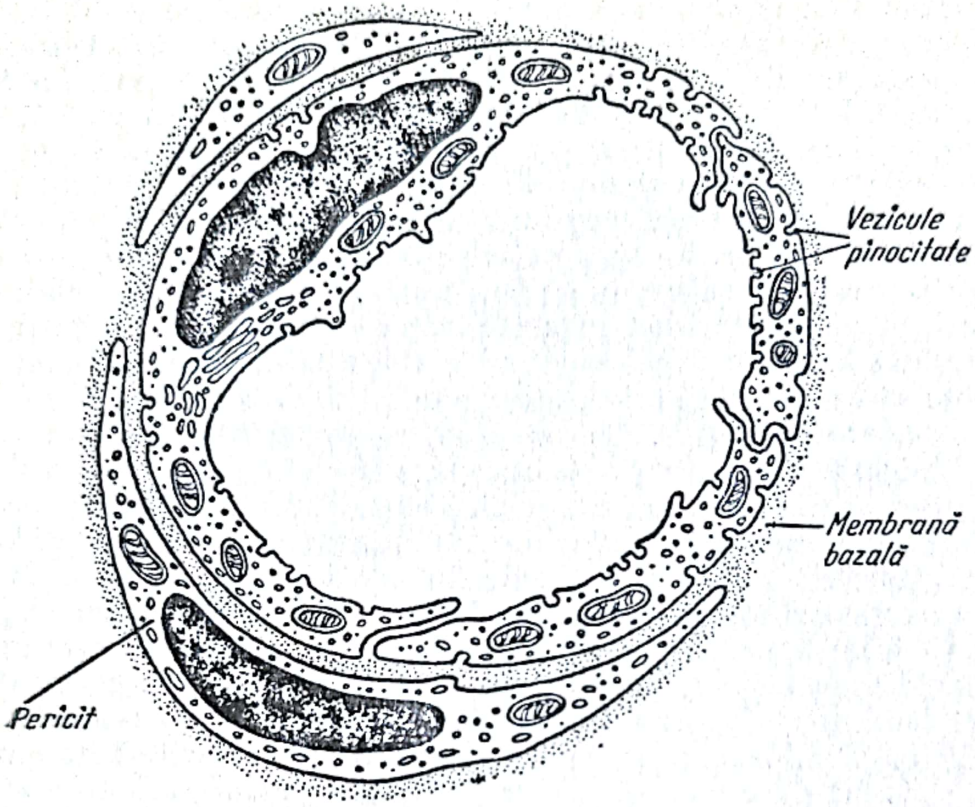


Fig. 96. Capilar sanguin.

bazală. Grosimea endoteliului este de aproximatip 0,1—0,3 microni, în afară de regiunea în care se găseşte nucleul, unde este mai înalt, de 2—3 microni. Nucleul celulei endoteliale proemină întotdeauna în lumenul vasului, fiind înconjurat de o margine subţire de citoplasmă şi de plasmalemă (fig. 96). În restul celulei endoteliale, citoplasma este relativ adundentă şi conţine organitele celulare comune.

Acestea sînt reprezentate printr-un condriom puţin abundent, un complex golgian redus, aşezat justanuclear, un reticul endoplasmatic rar, mai ales de tip neted şi lizozomi evidenţiaţi prin metoda histochimică pentru fosfataza acidă. Numărul lizozomilor creşte în caz de dietă bogată în lipide sau în ateroscleroză. În celulă se observă numeroase vezicule cu diametre de 100—200 Å, răspîndite în toată citoplasma, dar cu precădere sub membrana plasmatică dinspre lumenul vasului şi în vecinătatea plasmalemei ce vine în contact cu membrana bazală. Unele vezicule apar deschise înspre lumenul capilarului sub formă de buzunăraşe ale membranei celulare, fapt care a făcut ca aceste formaţiuni să fie considerate microvezicule de pinocitoză. Membrana celulei endoteliale are o structură trilaminată asimetrică cu un strat intern osmiofil mai subţire şi cîteodată discontinuu. Se observă nspre lumenul vasului prelungiri citoplasmatice şi pseudopode numeroase, de mărime şi forme

diferite. La nivelul membranelor ce înconjură microveziculele s-a evidențiat o bogată activitate ATP-azică.

La majoritatea capilarelor, celulele endoteliale stabilesc între ele legături funcționale, realizînd o teacă endotelială continuă în tot lungul vasului. Aceste joncțiuni intercelulare, alcătuite ca și la nivelul celulelor epiteliale, prezintă înspre lumen o porțiune foarte îngustă — zona occludens — care reprezintă o barieră puternică în calea circulației transmurale. Înspre porțiunea bazală, membranele plasmatice endoteliale se îndepărtează pînă la 100—120 Å, realizînd zona adherens, care facilitează fenomenul local de permeabilitate intercelulară.

Membrana bazală a capilarului este groasă de aproximativ un micron. În capilarele cu presiune sanguină ridicată, cum ar fi capilarele renale, grosimea membranei bazale crește prin mărirea stratului dens bazal reprezentat de fibrile. În componența membranei bazale intră ca și pentru alte membrane similare o substanță amorfă intens PAS pozitivă (datorită compușilor polizaharidici existenți) și o textură de fibre reticulinice, pe alocuri dublate de cîteva fibre de colagen. Între membrana bazală și endoteliu se află un spațiu clar de aproximativ 100—150 Å. Din loc în loc membrana bazală se dublează pentru a înconjura pericitele.

Fig. 97. Capilar sanguin; pericitele.

Pericitele sînt celule mari, cu un diametru de 15—20 microni. Sînt aplicate pe endoteliu cu axul lor mare paralel cu al capilarului, fiind acoperite și cuprinse în grosimea membranei bazale. Numărul pericitelor este variabil în raport cu diferitele tipuri de capilare, ele sînt așezate discontinuu de-a lungul vaselor, dar pot lipsi în unele capilare (fig. 97). Celula emite prelungiri care înconjură vasul respectiv ca niște ramuri. În citoplasma pericitului se găsesc vezicule mult mai numeroase decît în endoteliu; există și o activitate NADH-diaforazică mai crescută decît în celulele endoteliale. Originea și funcția pericitelor constituie și astăzi obiect viu de discuție între cercetători. Histologii clasici i-au atribuit o activitate contractilă necesară reglării debitului sanguin în capilare și au susținut că reprezintă o fibră musculară netedă care a pierdut structura miofibrilară prin adaptare la peretele capilar. Astăzi se renunță din ce în ce mai mult la ideea că este o celulă contractilă și se vorbește de pericit ca de un element activ fagocitar de origine histocitară cu rol în înglobarea particulelor nocive din jurul vasului.

În jurul capilalelor se găsește o atmosferă conjunctivă în care predomină celulele și fibrele. Fibrocitele și histocitele sînt în număr crescut în jurul vaselor. Ultimele pot trimite prelungiri celulare care să pătrundă prin spațiile interendoteliale și să ajungă pînă la lumenul capilarului cu scopul de a putea interveni și în interiorul vasului prin activitatea lor vie pinocitară și fagocitară, împotriva factorilor nocivi plasmatici. În afară de celulele conjunctive, în jurul

Scanned with OKEN Scanner

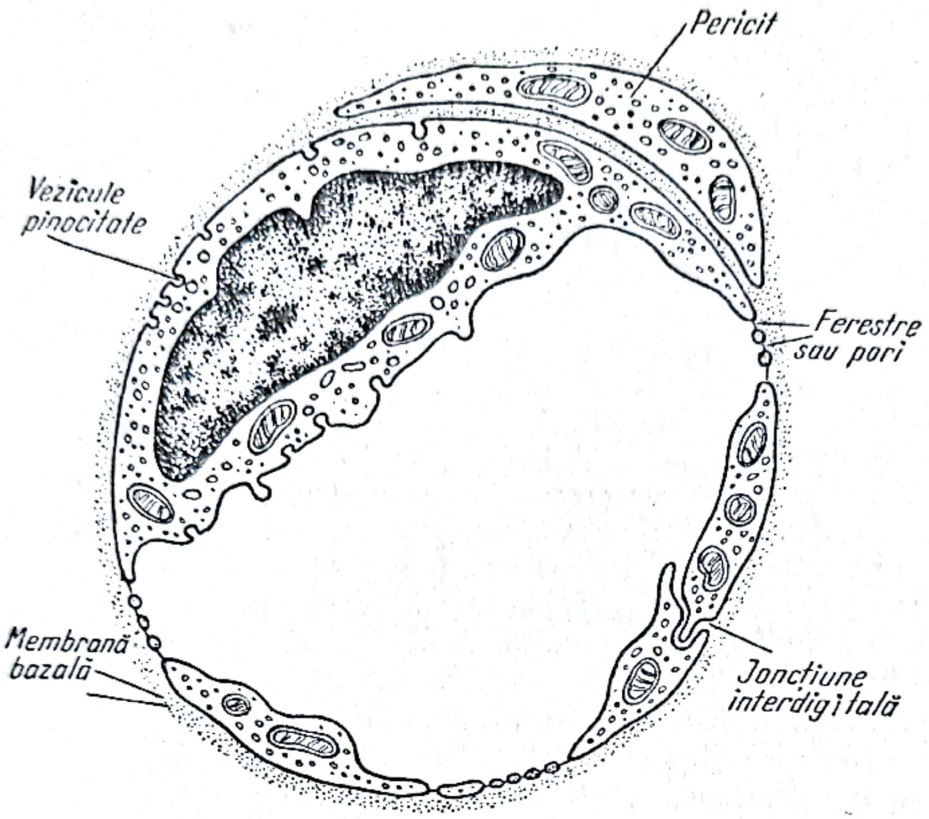


Fig. 98. Capilar fenestrat.

capilarului se găsesc fibre de reticulină şi fibre de colagen care sînt destinate a constitui un suport pentru capilarul respectiv.

Tipurile de capilare. Capilarele se împart în capilare cu endoteliu continuu; cu endoteliu fenestrat; cu endoteliu discontinuu (sinusoide).

Capilarele cu perete continuu sînt cele mai des întîlnite. Endoteliul lor este neîntrerupt, celulele prezentînd joncţiuni foarte strînse de zona occludens şi adherens. Lumenul capilarului este format din 1—2 celule endoteliale. Cele mai tipice capilare sanguine sînt întîlnite la nivelul muşchiului; capilarul vascular poate prezenta modificări după tipul şi funcţia ţesutului conjunctiv în care se găseşte; astfel, în straturile profunde ale pielii, în hipoderm, capilarele au un lumen mai larg; în derm lumenul capilarului este mai redus datorită grosimii mai mari a endoteliului, şi unui număr crescut de celule (3—4) care delimitează vasul respectiv.

Capilarele cu perete fenestrat prezintă un endoteliu subţire cu celule în a căror citoplasmă se observă numeroase orificii de diametre în jurul cifrei de 0,1 microni localizate în toată celula, dar mai numeroase către periferie (fig. 98). Feresterele citoplasmatice pot fi complet deschise, dar după cum sugerează L u f t 1968), acestea ar putea fi acoperite de o peliculă fină formată din stratul extern osmiofil a structurii trilaminate plasmalemale a celulei endoteliale. Aceste orificii diferă ca număr, ca diametru, ca repartiţie, determinînd tipuri variate de capilare fenestrate (fig. 99).

Scanned with OKEN Scanner

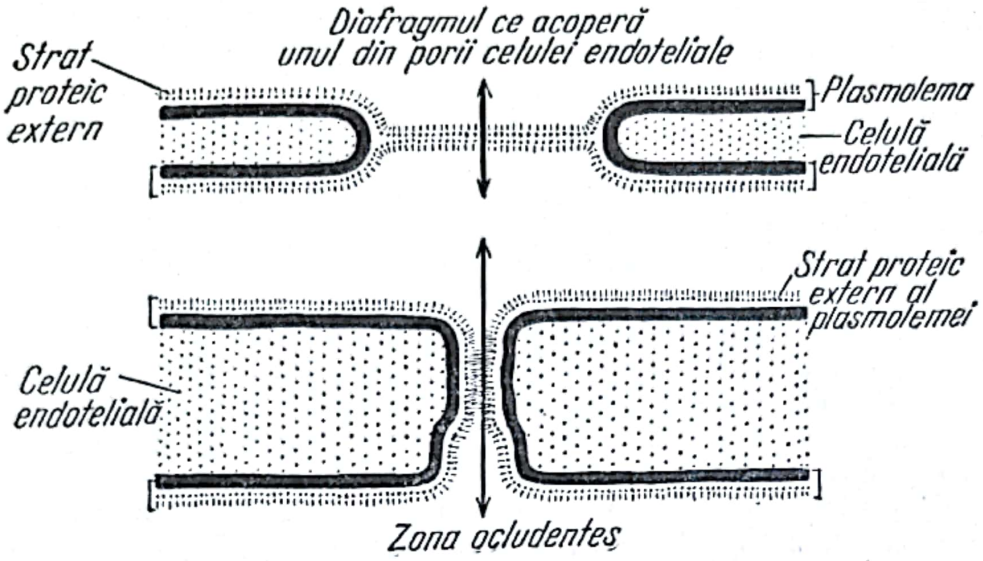


Fig. 99. Schema structurilor trilaminate la nivelul porilor din capilarele fenestrate.

Capilarele fenestrate au o localizare preferențială în țesuturile și organele în care are loc un schimb rapid de lichide, metaboliți și solvenți (în glandele endocrine), în organe, în care are loc un proces viu de resorbție (rinichi, intestin, plexurile coroide).

Capilarele sinusoidale au un calibru neregulat determinat de grosimi variabile ale endoteliului lor. Porțiuni mai îngroșate de perete capilare pot alterna cu altele mai subțiri. Între celulele endoteliale pot exista orificii largi lipsind o legătură strînsă interendotelială. Membrana bazală este inegală ca grosime de-a lungul aceluiași capilar, putînd chiar lipsi în unele puncte. Capilarele sinusoidale se întîlnesc în ficat, splină, măduvă osoasă, organe, în care prin porii intercelulari se fac treceri de particule mari sau de celule prin peretele capilar.

Capilarele limfatice. Sînt vase în care circulă limfa; ele au structuri asemănătoare capilarelor sanguine, cu peretele format dintr-un endoteliu continuu, dar cu un diametru mai mare decît al capilarelor obișnuite. Citoplasma celulelor endoteliale este subțire cu numeroase vezicule pinocitate în interior, iar membrana plasmatică trimite prelungiri și pseudopode numeroase înspre lumen. Membrana bazală este neregulată ca grosime și mai puțin evidență, fiind prevăzută cu numeroase fibre de colagen. La nivelul capilarului limfatic lipsesc pericitele; limitele dintre celule sînt sinuoase, complicate, cu suprapuneri de prelungiri celulare endoteliale.

Capilarele sanguine, în general, sînt interpuse între artere și vene. Calibrul vaselor cu sînge oxigenat se reduce treptat, artera devine o arteriolă precapilară sau metaarteriolară, care la locul de trecere în capilar este prevăzută cu un sfincter ce intervine în reglarea circulației sanguine locale.

Capilarul care ia naștere din metaarteriole poate să se verse direct în prevenulă și aceasta în venulă, fiind socotit drept *capilar de pasaj* (de trecere).

Adevăratele capilare, însă iau naştere fie din arteriolele precapilare, fie din metaarteriolă sau chiar din capilarul de trecere, realizînd în totalitatea lor prin numeroasele ramificaţii anastomozate *patul capilar* al ţesutului respectiv. Ramificaţiile numeroase ale capilarelor adevărate se îndreaptă către prevenulă în care se varsă izolat, sau unite într-un conduct unic înainte de desfacerea lor în venulă. Sîngele circulă fie direct prin capilarul de pasaj, ocolind patul vascular, sau, dimpotrivă, numai prin acestea din urmă. Capilarele adevărate nu vor fi toate pline de sînge în acelaşi moment: în timp ce în unele se observă circulaţie sanguină, altele pot fi goale, situaţie ce se schimbă de la un moment la altul în interiorul aceluiaşi pat capilar.

Şunţuri arterio-venoase. În organism există în anumite ţesuturi posibilitatea ca sîngele arterial să treacă direct în vene, fără ca între acestea să fie interpuse vase capilare. Aceste legături sînt denumite şunţuri arteriovenoase sau scurtcircuite. Ele se întîlnesc frecvent în piele, nivelul extremităţilor inferioare etc. La nivelul lor se observă o porţiune incipientă arterială şi în continuare o porţiune venoasă, cu structurile vasculare caracteristice. Între aceste două porţiuni, vasul de legătură (şuntul) prezintă un perete îngroşat şi modificat în tunica medie: fibrele musculare netede pierd structurile miofibrilare, se transformă în celule mari-globulare sau poliedrice cu aspect epitelioid. În adventiţie sporesc în număr fibrele colagene. Întreg şuntul este cuprins într-o plasă deasă de filete nervoase. Şuntul arterio-venos asigură circulaţia normală în acele zone în care, sub influenţa a diferiţi stimuli, este oprită circulaţia prin patul capilar. În acelaşi timp, şunturile arterio-venoase menţin sau sporesc uşor temperatura locală (fapt binevenit în circulaţia extremităţilor, unde datorită frigului se produc vasoconstricţii capilare frecvente). Prezenţa de filete nervoase în număr mare la acest nivel arată că aceste formaţiuni sînt extrem de sensibile şi că ele reacţionează şi intră prompt în funcţie, acolo unde unii factori împiedică o circulaţie capilară normală în ţesuturile respective.

Reţeaua admirabilă sau mirabilă şi sistemul port. În unele organe, capilarele sînt interpuse între două vase de acelaşi tip, cu structură şi funcţie asemănătoare. Astfel, la nivelul glomerulului din rinichi, capilarele fac lagătura între două arteriole, alcătuind o reţea mirabilă; în lobulul ficatului circulaţia capilară este interpusă între două venule, realizînd sistemul port.

Funcţia capilarelor. La nivelul capilarelor se petrec schimburile active dintre sînge şi ţesuturile învecinate. Acest fenomen se realizează prin intervenţia mai multor factori, printre care cei mai importanţi sînt daţi de circulaţia în capilare şi de permeabilitatea peretelui endotelial. Pentru elucidarea acestor două probleme, discuţiile sînt încă vii, multe din ipotezele emise sînt deosebit de atrăgătoare, dar nu rezolvă încă definitiv problema variabilităţii calibrului capilar şi a undei sanguine sau problema traversării barierei endoteliale. Circulaţia în capilare este sub dependenţa a mai multor factori, (nervos sau al mediatorilor chimici). Deşi la nivelul capilarelor sînt descrise fibre nervoase ce înconjură vasul în spirală, acestea sînt reduse ca număr şi nu pot explica declanşarea unei acţiuni de contracţie sau relaxare a vasului. Nici mediatorii chimici veniţi pe cale sanguină nu pot efectua acest lucru. Pe lîngă aceşti factori care singuri luaţi nu pot explica progresia şi cantitatea variabilă de sînge din

Scanned with OKEN Scanner

vasele mici se admite că un rol principal în reglarea undei sanguine în capilare revine arteriolei precapilare sau metaarteriolei, care prin acțiunea musculaturii din tunica medie și a sfincterului precapilar comandă viteza, presiunea fluxului sanguin și cantitatea de sînge ce intră în capilar. Circulația în capilar mai este influențată și de presiunea mai scăzută din venule, precum și de eventualele obstacole întîlnite pe traiectul acestor vase. În caz de prăbușire totală a tonusului muscular arteriolar și a sfincterului precapilar, sîngele se revarsă în capilare, stagnează la nivelul lor, produce colapsul circulator și starea de șoc.

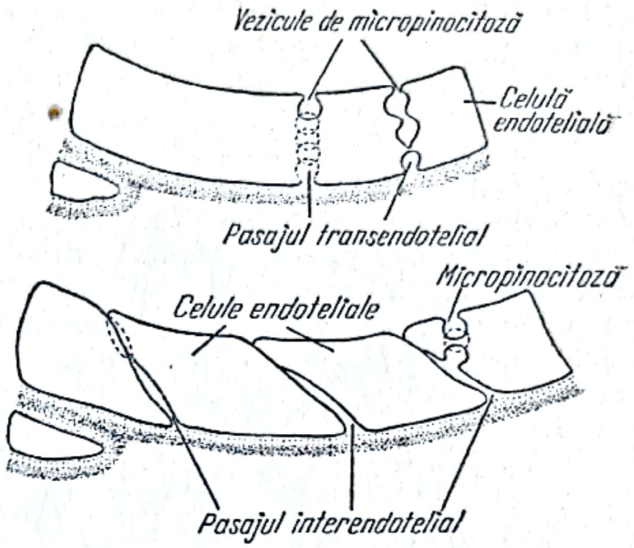


Fig. 100. Schema pasajului transendotelial și intercelular (după Luft).

Permeabilitatea peretelui endotelial este factorul principal care asigură schimburile dintre sînge și țesuturi. Peretele capilar oferă un exemplu de permeabilitate deosebit de activă, fenomen încă incomplet elucidat mai ales la nivelul capilarului cu endoteliu continuu. Există posibilitatea de trecere prin însăși celula endotelială sau prin joncțiunile interendoteliale (fig. 100).

Pasajul *transendotelial* s-ar realiza în trei feluri:

1. *Difuzie sau filtrare* pentru moleculele mici de apă și gaze.

2. *Transferul activ* prin microvezicule; este procesul de pinocitoză de la nivelul plasmalemei ce privește înspre lumenul vasului. În mod obișnuit, veziculele pinocitare sînt reținute de celula însăși care va folosi materialul introdus pentru activitățile metabolice proprii. În endoteliu, însă, o parte din aceste microvezicule străbat citoplasma, fără a fi metabolizate și trec mai departe în spațiul extracelular, realizînd un fenomen de pasaj care poartă denumirea de *citopempsis*.

3. *Deschiderea unei microvezicule în alta*, în șirag și a ultimei înspre membrana bazală.

Pasajul intercelular de la nivelul joncțiunilor strînse ale endoteliului continuu ar putea fi efectuat în mai multe moduri, și anume:

— zone occludens constituie o barieră care poate fi forțată, ea funcționînd ca o ușă ce se închide și se deschide la nevoie pentru realizarea trecerii dintr-o parte în alta a peretului endotelial;

— trecerea se efectuează într-o primă fază printr-un proces de filtrare prin citoplasma endotelială; substanțele respective sînt apoi îndreptate către zona adherens și prin aceasta la membrana bazală;

— microveziculele pinocitare trec din celula endotelială prin zona adherens în spațiul dintre celula endotelială și membrana bazală.

Fenomenul de permeabilitate, mai greu de explicat la nivelul capilarului cu perete continuu, este mai uşor de înţeles cînd este vorba de un capilar fenestrat şi de un capilar sinusoid, prevăzuţi cu orificii intra- şi intercelulare.

Funcţiile membranei bazale a capilarului. Rol mecanic: constituie un suport pentru celulele endoteliale şi se opune dilatării vaselor. *Rol de membrană selectivă.* La nivelul ei au loc fenomene de filtrare selectivă a apei şi a unor molecule mici. Poate fi traversată de particule cu un diametru de aproximativ 50 Å. Membrana pare a fi ruptă în dreptul unor pericite, constituind punctele slabe în structura capilarului.

Regenerarea capilarelor se efectuează în două moduri: prin înmugurire şi unirea noilor ramuri prin legătura cap la cap sau prin alungirea capilarelor existente.

VARIETĂŢI DE ŢESUTURI CONJUNCTIVE

Ţesuturile conjunctive pot fi împărţite, după predominenţa unuia dintre cele trei elemente componente, în: ţesuturi conjunctive în care *predomină celulele* (ţesutul adipos); ţesuturi conjunctive în care *predomină fibrele* (tendonul); ţesuturi conjunctive în care predomină *substanţa fundamentală* (gelatina Warthon din cordonul ombilical); ţesuturi conjunctive, în care celulele, fibrele şi substanţa fundamentală sînt în *proporţii relativ egale* (ţesutul conjunctiv lax).

Ţesuturile conjunctive pot fi împărţite şi după modul în care fibrele conjunctive din interiorul lor se orientează sub influenţa presiunilor diferite ce se exercită asupra lor: ţesuturi conjunctive *nemodelate* sau *neorientate* (ţesutul conjunctiv lax); ţesuturi conjunctive *semimodelate* sau *semiorientate* (seroasele şi membranele); ţesuturi conjunctive *modelate* sau *orientate* (tendonul).

ŢESUTURILE CONJUNCTIVE NEMODELATE
ŢESUTURILE CONJUNCTIVE LAXE

Nu au o delimitare precisă. Sînt caracterizate printr-o lipsă de aranjament al fibrelor conjunctive, printr-o substanţă fundamentală relativ abundentă şi printr-o mare varietate de celule conjunctive. Ele conţin numeroase vase sanguine şi limfatice. Ţesuturile conjunctive laxe au o mare plasticitate, o mare putere de transformare, de metaplaziere şi un metabolism deosebit de activ.

Principalele tipuri de ţesuturi laxe sînt reprezentate prin: *ţesutul reticular, ţesutul areolar sau conjunctiv lax propriu-zis şi ţesutul adipos.* La acestea se pot adăuga şi alte tipuri prezente în proporţii mai reduse în organism, ca: ţesutul pigmentar, ţesutul conjunctiv lax lamelos, ţesutul conjunctiv fibro-hialin şi veziculo-hialin.

a. *Ţesutul reticular* se găseşte în mucoasele respiratorii şi digestive şi constituie reţeaua de susţinere din organele limfoide din măduva osoasă sau ficat.

Scanned with OKEN Scanner

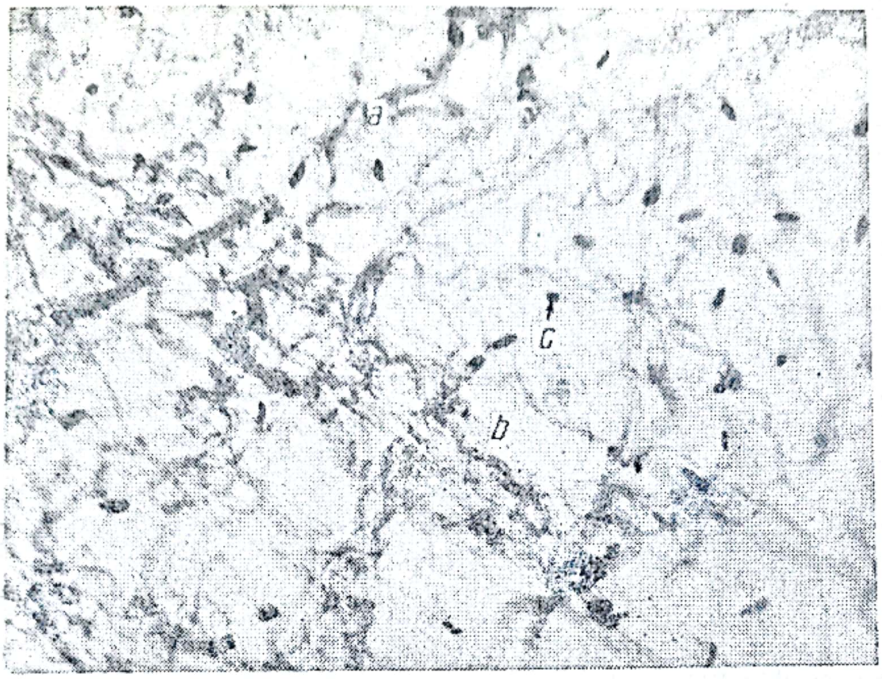


Fig. 101. Ţestutul areolar (lax propriu-zis):
a — fibre colagene; b — fibre elastice; c — nuclei de celule conjunctive.

Ţesutul reticular este format din celule reticulare şi din fibre de reticulină, aşezate sub formă de reţea. În ochiurile reţelei, pe lîngă celulele reticulare, se găsesc şi limfocite. Ţesutul reticular are un *rol mecanic*, el susţine organele în care se găseşte; în acelaşi timp, datorită activităţii fagocitare a celulelor reticulare, joacă un rol important în procesele de apărare locală. În organele limfoide, celulele reticulare pot să se transforme în elementele seriei limfocitare, iar la nivelul măduvei osoase pot da naştere elementelor figurate sanguine. Celulele reticulare se pot diferenţia în macrofage sau în alte tipuri de celule conjunctive.

b. *Ţesutul areolar sau conjunctiv lax propriu-zis* este ţesutul cel mai bine reprezentat în organism în comparaţie cu toate celelalte tipuri de ţesuturi conjunctive (fig. 101). El constituie stroma din interiorul majorităţii organelor. Se găseşte de-a lungul vaselor şi nervilor, în piele sau în membrane, leagă între ele fibrele musculare, ca şi grupele de muşchi şi umple toate spaţiile rămase libere între organe. Este un ţesut moale, cu o formă ce se poate modifica uşor. Are o putere mare de adaptare şi prezintă un intens metabolism. Conţine fibre colagene, elastice şi de reticulină, toate tipurile de celule conjunctive, printre care cele mai numeroase sînt fibroblastele şi macrofagele. Ţesutul conjunctiv lax are o *funcţie mecanică* prin faptul că este suport pentru organe şi în acelaşi timp permite grade diferite de mobilitate ale structurilor în care se găseşte. Deplasarea sau întinderea lui este urmată de reîntoarcerea la poziţia iniţială *Funcţia metabolică* asigură transportul de metaboliţi din sînge la ţesuturi prin intermediul lichidului tisular al substanţei fundamentale. Funcţia de *apărare*

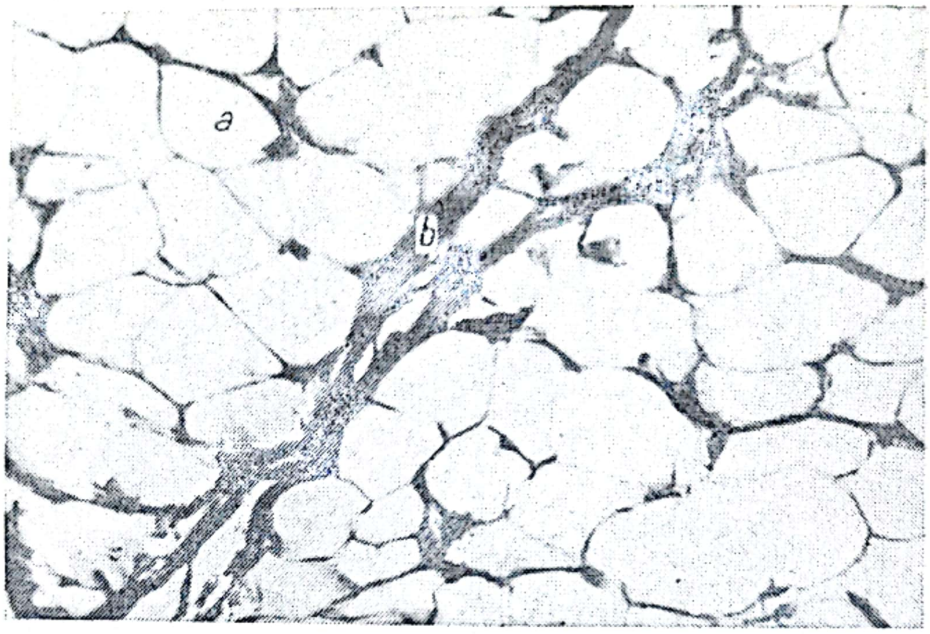


Fig. 102. Ţesut adipos.
a — adipocite; b — capilare sanguine.

se realizează prin macrofagele autohtone sau prin celule sanguine ce migrează din sînge în substanţa fundamentală (neutrofile, monocite, limfocite).

Funcţia de *reparare* se exercită mai ales de către fibroblaşti, care refac integritatea ţesutului conjunctiv după tulburările mecanice produse de unele boli, printr-un proces de fibrilogeneză şi de elaborare de substanţe mucopolizaharidice.

c. *Ţesutul adipos* sau ţesutul gras. Este abundent în piele unde constituie paniculi adipoşi. Se găseşte în jurul unor organe, ca rinichiul şi suprarenala, ochiul şi tiroida, în mezenter, în mediastin în regiunile axilare şi inghinale. Este format din celule grase grupate în număr variabil 200—400 în jurul capilarelor şi arteriolelor constituind lobuli adipoşi (fig. 102).

Adipocitele sînt aşezate într-o plasă de fibre reticulinice şi elastice şi sînt înconjurate de o bogate reţea vasculară şi nervoasă. Fiecare celulă grasă posedă un capilar propriu şi un filet nervos înconjurător sau terminal.

Cercetări efectuate de colectivul catedrei de Histologie din Bucureşti, prin metodele clasice de impregnare argentică, precum şi prin metodele moderne de histoenzimologie, stabilesc existenţa unor bogate filete nervoase colinergice şi adrenergice în jurul celulelor adipoase, precum şi terminaţii nervoase pe celulă (figura 103).

Ţesutul adipos are o *funcţie metabolică* marcată prin intervenţia lipocitului în variatele procese de sinteză sau de catabolism din organism. *Prin funcţia mecanică*, ţesutul adipos are rol de ţesut de rezervă, de depozit pentru substanţele grase. Este un izolator termic (împotriva frigului) pentru unele organe mai importante în jurul cărora se găseşte. Pentru om, acest fapt este important,

deoarece pielea lui nu are un strat izolator de blană. Are rol de amortizor mecanic pentru unele țesuturi și organe din regiunile supuse unor presiuni puternice. Formează un perete cu caracter elastic între unele organe.

Grăsimea brună este fiziologic mult mai activă. Ea este puternic lobulată și foarte vascularizată, avînd o aparență glandulară. Este identificată la foetusul uman, dar nu se întîlnește decît ocazional la adult.

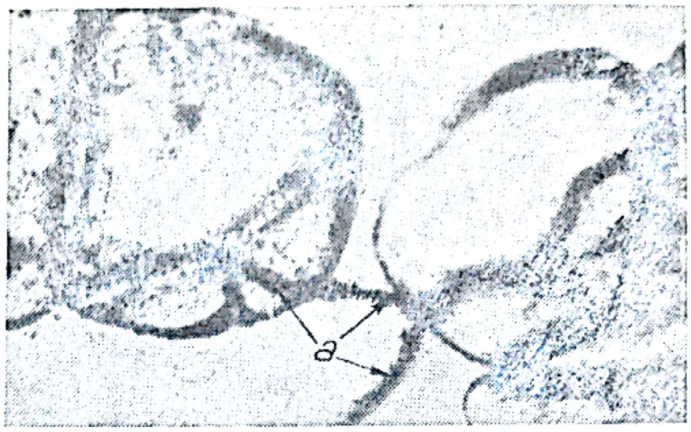


Fig. 103. Adipocite (reacția histochimică pentru acetilcolinesterază):
a — filete nervoase colinergice.

d. *Țesutul conjunctiv pigmentar* este un țesut conjunctiv lax propriu-zis, care apare modificat prin abundența de celule pigmentare pe care le conține. Se întîlnește în derm, în coroidă, iris și, pe alocuri, în adventiția vaselor.

e. *Țesutul conjunctiv fibro-hialin și veziculo-hialin.* Celulele din țesutul conjunctiv lax se încarcă cu glicogen, se îmbibă cu apă, își modifică forma și devin veziculoase sau sticloase. În jurul țesutului se diferențiază și o capsulă. Acest țesut apare în zonele de frecare și presiune crescută sau în teritoriile de flexiune ale tendoanelor.

f. *Sistemul histiocitar.* Nu este un țesut propriu-zis, ci un ansamblu de celule răspîndite în diferite țesuturi și organe care se caracterizează toate prin proprietăți fiziologice comune, și anume:

— se mobilizează foarte repede, deplasîndu-se prin pseudopode sau cu ajutorul membranelor și vălurilor ondulate de la suprafața celulei;

— se încadrează în sistemul macrofag al organismului;

— prezintă foarte dezvoltate funcțiile de fagocitoză, coloidopexie și pinocitoză;

— se evidențiază foarte bine în țesuturi cu ajutorul coloranților vitali electronegativi (albastru Tripan etc.);

— sînt angajate prin activitățile lor în funcțiile de apărare ale organismului, înglobează microbi, curăță țesuturile de resturile celulare și de particulele nocive locale;

— produc anticorpi.

Fac parte din sistemul histiocitar: histiocitele din țesuturile conjunctive, celulele reticulare din organele hematolimfopoetice; celulele endoteliale din peretele vascular, celulele lui Kupffer din ficat; celulele prăfoase din alveolele pulmonare; microgliile din sistemul nervos.

Unele din celulele sistemului histiocitar, pe lîngă funcțiile comune caracteristice, pot prezenta aspecte particulare de activitate. Astfel, celulele reticulare din măduva osoară înmagazinează fierul coloidal, iar unele celule secretă anticorpi.

ȚESUTURILE CONJUNCTIVE SEMIMODELATE

La nivelul lor, fibrele conjunctive prezintă un început de orientare constituind straturi. În această categorie pot fi grupate membranele fibroase şi membranele seroase.

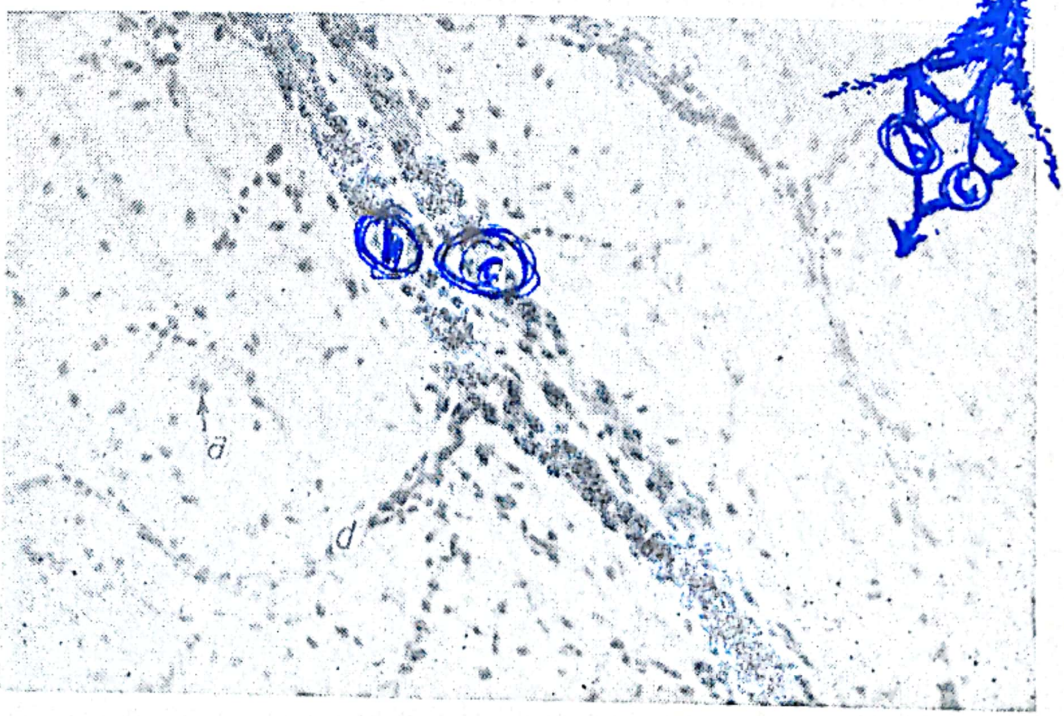
MEMBRANE FIBROASE

1. *Dermul pielii* caracterizat prin predominanţa fibrelor colagene, orientate într-un singur plan şi prin densitatea celulară.
2. *Corionul mucoaselor* cu aceleaşi caracteristici structurale ca ale dermului. În unele organe, ca în stomac, intestin etc., corionul mucoasei devine lax, la nivelul lui predominînd fibrele de reticulină.
3. *Capsulele de acoperire a unor organe* sînt formate din fibre colagene abundente, printre care celulele conjunctive apar turtite. Se întîlnesc la nivelul ficatului (capsula lui Glisson), a splinei, ganglionilor limfatici, testicului (albugineea) etc.

MEMBRANE SEROASE

1. *Peritoneul, pleura şi pericardul.* Aceste membrane înconjură şi delimitează cavităţi închise din organism. Ele prezintă o *foiţă parietală* care se aplică pe peretele fiecărei cavităţi şi o *foiţă viscerală* ce acoperă suprafaţa organelor din

Fig. 104. Mezenter:
a — nucleu; b — arteriole; c — venula; d — capilare.



cavitatea respectivă (abdomen, torace). Între cele două foițe există un spațiu variabil, deseori virtual, în care se găsește o foarte mică cantitate de serozitate care poate crește în cazuri patologice. Atît la foița parietală cît și la cea viscerală se descriu următoarele straturi pornind de la suprafața lor de contact:

Mezoteliul este format dintr-un rînd de celule turtite care de fapt sînt celule conjunctive metaplaziate adaptate funcției de alunecare a seroasei.

Membrana bazală pe care se sprijină mezoteliul.

Lamina propria sau corionul (țesutul conjunctiv dens, semimodelat pe care se sprijină mezoteliul). Grosimea și tipurile de fibre conjunctive din lamina propria variază după locurile și membrana seroasă în care se găsește. În general, fibrele conjunctive și în special cele colagene prezintă un aranjament destul de regulat. Printre fibre se găsesc fibrocite, macrofage, mastocite, celule grase și un număr variabil de alte tipuri celulare.

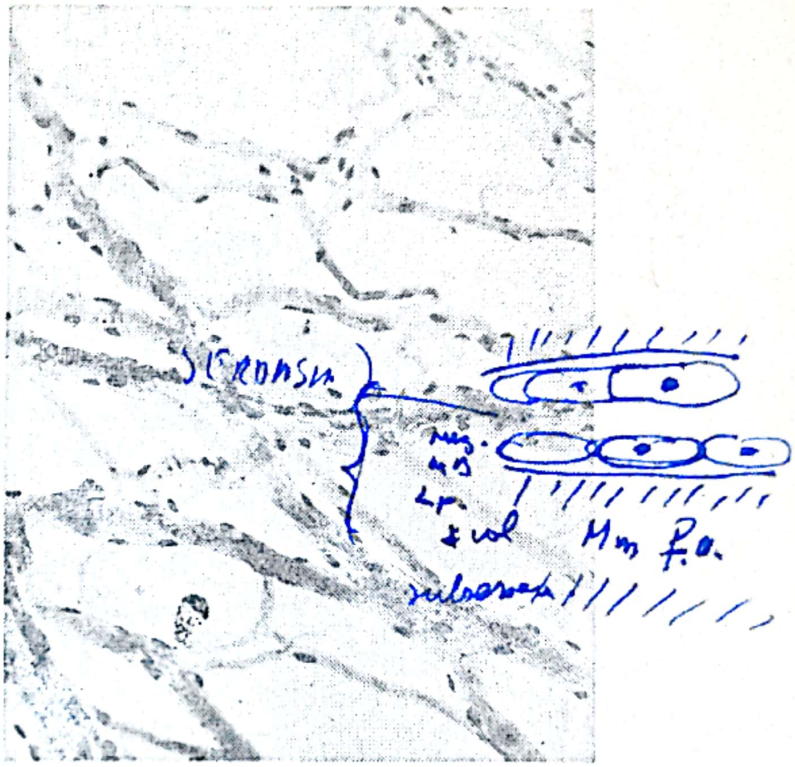


Fig. 105. Epiplon fenestrat.

Subseroasa este un țesut conjunctiv lax care face legătura membranelor seroase cu peretele cavității în care se găsesc sau cu organele respective.

2. *Mezenterul* este o membrană seroasă dublă, ce ia naștere prin fuzionarea corionului a două foițe seroase peritoanele într-un singur strat conjunctiv, acoperit pe ambele fețe de celule mezoteliale. Poate conține grăsime și uneori noduli limfatici (fig. 104).

3. *Epiplonul* prezintă aceeași structură cu mezenterului, fiind o membrană continuă de-a lungul perioadei intrauterine pînă la naștere. Pe măsura înaintării în vîrstă, în membrana epiploică apar orificii la început mici, apoi cu diametre din ce în ce mai mari, care confluează în așa fel că la bătrînețe epiplonul prezintă un aspect reticulat sau fenestrat (cu ochiuri foarte largi) (fig. 105).

Histofiziologia seroaselor. La nivelul membranelor seroase, are loc un puternic *proces de resorbție* pentru cristaloide, coloizi și diferiți corpi în suspensie, fenomen ce apare mai accentuat pentru foița viscerală. Prin numeroasele macrofage (histiocit) pe care le conțin membranele seroase intervin în *procesul de apărare local.* Acest fapt este deosebit de evident la peritoneu și epiplon în a căror structură se găsesc aglomerări de histiocite și limfocite cu rol fagocitar, care alcătuiesc așa-numitele *plăci lăptoase.* Transudatul asemănător limfei, care

se găseşte în cavitatea dintre foiţele viscerale şi parietale, permit o oarecare *mobilitate* a organelor respective. Celulele mezoteliale pot să se mobilizeze sau să prolifereze reacoperind suprafeţele ce au fost denudate în urma unor injurii locale toxice sau inflamaţiuni. Epiplonul şi mezenterul se aplică pe plăgile organelor abdominale, grăbind astfel cicatrizarea lor.

ŢESUTURILE CONJUNCTIVE MODELATE (orientate)

Prezintă următoarele caracteristici: sînt ţesuturi conjunctive dense; la nivelul lor predomină fibrele conjunctive care sînt de obicei orientate într-o singură sau în două direcţii; celulele sînt mai reduse la număr, ca şi substanţa fundamentală; formează organe de sine stătătoare cu funcţie definitivă, fără plasticitate; au o vascularizaţie redusă, hrănindu-se în special prin difuziune; funcţia majoră pe care o au aceste ţesuturi în organism este cea mecanică, fiind situate în locurile de frecare, tracţiune şi presiune maximă.

Din ţesuturile conjunctive modelate fac parte:

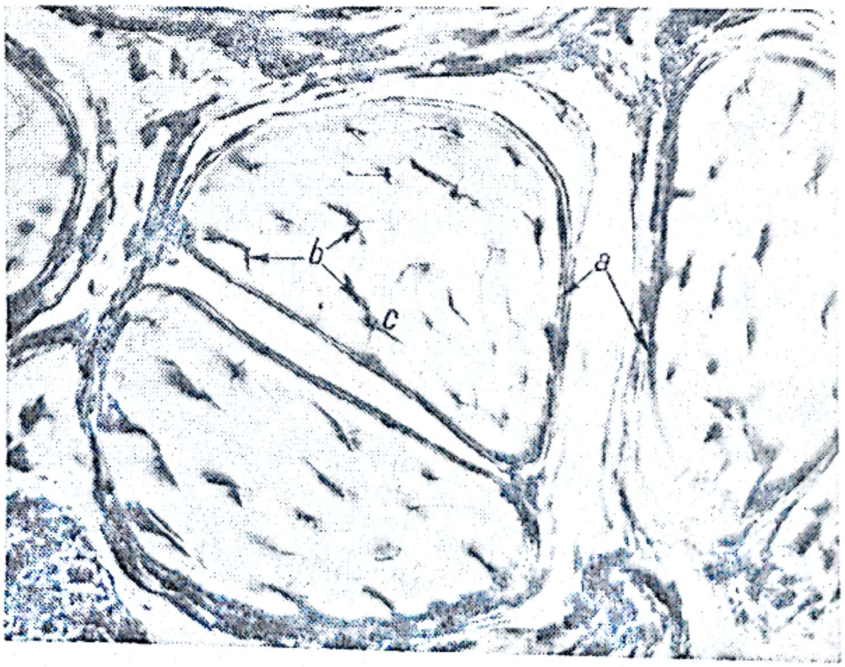
Ţesuturi conjunctive fibroase propriu-zise şi anume: tendonul, aponevroza de întărire, ligamentul elastic şi ligamentul articular.

Ţesuturi conjunctive lameloase şi fibroase de acoperire ca: ţesutul propriu al corneei; tecile conjunctive ale firului de păr, tecile conjunctive ale nervilor.

Ţesuturi conjunctive de alunecare, ca: bursele seroase, culisele tendinoase, sinovialele articulare.

La nivelul ţesuturilor dense modelate pot predomina fibrele colagene (exemplu, tendonul, aponevroza, ligamentul articular) sau fibrele elastice (exemplu: ligamentul elastic.)

Fig. 106. Tendonul, secţiune transversală:
a — peritenonium; b — tenocite.



Scanned with OKEN Scanner

Fig. 107. Tendon, secțiune longitudinală:
a — nucleii tenocitelor; b — fibre tendinoase.

Țesuturi conjunctive fibroase propriu-zise.

Tendonul este format din unități structurale ce poartă denumirea de tendoane simple sau tendoane primare. Fiecare tendon primar conține: fibre colagene, așezate în mănunchi, paralele cu axul lung al organului în jurul cărora se găsesc rare fibre elastice așezate în rețea, celule *tendinase-tenocite*, așezate printre benzile de fibre conjunctive, reprezentînd singurul tip celular din tendon. Sînt de fapt fibrocite adaptate situației și funcției organului respectiv.

Văzute în secțiune transversală (fig. 106), tenocitele au o formă stelată cu prelungiri ce înconjură mănunchiurile de fibre colagene. Datorită aspectului lor în formă de „aripi" tenocitele au mai fost denumite celule aliforme. În secțiune longitudinală, celulele apar turtite și lipite de fibre ca afișele de stîlpi (figura 107). De obicei, tenocitele vecine au nucleii lor apropiați, denumiți pentru aceasta bigeminați. Bigeminismul este datorit faptului că celulele-fiice ce rezultă din diviziune, din cauza spațiului strîmt pe care îl au la dispoziție între fibrele de colagen, nu se pot îndepărta decît foarte puțin una de cealaltă. *Substanța fundamentală* este cantitativ foarte redusă ocupînd spațiile înguste dintre fibre și celule.

Tendoanele primare sau simple (întîlnite numai la animalele inferioare și în coada de șoarece) se unesc la animalele superioare mai multe într-un grup comun, realizînd *tendonul compus sau tendonul secundar*. Mai multe tendoane compuse grupate realizează tendonul ca organ. Acesta este învelit la periferie de o teacă de țesut conjunctiv lax, numită *epitenonium*. În interiorul organului, fiecare tendon compus la rîndul lui este înfășurat într-o atmosferă conjunctivă

Scanned with OKEN Scanner

laxă, denumită *peritenonium*. Fiecare fascicul primar este separat de celelalte prin ţesut conjunctiv lax, ce poartă numele de *endotenonium*. Vasele şi nervii se găsesc în epi-, peri şi endotenonium, nu pătrund în interiorul fasciculului.

Funcţia tendonului. Este un organ flexibil, foarte rezistent la forţele mecanice. Prezintă o rezistenţă tensională mai mare decît a unui os de aceeaşi mărime. Nu prezintă elasticitate. Este însă bogat inervat, fiind astfel legat indirect de recepţia senzorială. Prin intermediul tendoanelor, muşchii se fixează pe os. În caz de distrugere în urma unui traumatism, tendonul se reface foarte încet. Apar vase de neoformaţie şi fibroblaste în vie activitate fibrilogenetică Primele fibre colagene care se formează sînt foarte subţiri, ele se îngroaşe şi devin mai abundente în timp.

Aponevrozele au o structură asemănătoare cu a tendonului, dar sînt mai late şi mai turtite.

La nivelul lor, fibrele colagene se dispun în două sau mai multe planuri suprapuse; direcţia fibrelor paralele între ele într-un plan este perpendiculară pe direcţia fibrelor din planul următor. Fibrele elastice sînt rare. Celulele conjunctive se află înghesuite între planurile suprapuse. Din această cauză, forma lor este neregulată, foarte variată, îmbrăcînd aspecte asemănătoare literelor de alfabet (I, T, Y, Z etc.).

Aponevrozele simple cu două straturi se întîlnesc la vertebratele inferioare, *aponevrozele compuse* alcătuite din mai multe planuri suprapuse sînt prezente la vertebratele superioare.

Ligamentul articular este construit în acelaşi mod ca şi tendonul, fără însă ca organizarea lui să fie atît de regulată ca la acesta din urmă. Fibrele colagene au un traiect uşor spiralat pentru a permite extensia lor în timpul mişcărilor articulare.

Ligamentul elastic. La nivelul lui predomină fibrele elastice mai groase (5—7 microni) aşezate în şiruri paralele. Printre fibrele elastice pot apărea şi fibre de reticulină. Fibrocitele rare ocupă interspaţiile dintre fibrele conjunctive. Vasele şi nervii sînt foarte rari. Culoarea ligamentului elastic este galbenă, datorită numărului mare de fibre elastice. În categoria ligamentelor elastice intră: ligamentum mucheae (la patrupede), ligamentul stilohioid, coardele vocale adevărate.

Cînd asupra ligamentelor elastice se exercită o forţă de tracţiune, ele răspund prin menţinerea unei stări tensionale locale. Revin la forma de repaus în momentul în care aceste forţeşi-au încetat acţiunea lor.

Ţesuturi conjunctive lameloase şi fibroase de acoperire.

Ţesutul propriu al corneei reprezintă stratul cel mai gros al acestei foiţe transparente a globului ocular. Este delimitat anterior de un epiteliu pluristratificat pavimentos, de care este despărţit printr-o membrană bazală groasă şi posterior de un endoteliu dintr-un singur rînd de celule, de care este despărţit printr-o membrană bazală mai subţire, dar mai rezistentă.

În ţesutul propriu al corneei, *fibrele conjunctive* sînt aşezate în 40—60 de lamele, orientate paralel între ele şi paralel cu suprafaţa organului. Fiecare lamelă este formată din fibre colagene foarte fine cu un diametru de 250—

Scanned with OKEN Scanner

400 Å. Fibrele sînt așezate paralel cu axul lung al lamelor aceluiași strat și perpendicular pe fibrele lamelelor adiacente, ceea ce face ca în lumină polarizată să apară o alternanță de lame dense și obscure. Către partea posterioară a țesutului propriu corneean, pe lîngă fibrele colagene, apar în lamele și rare fibre elastice. Lamelele paralele sînt unite între ele prin punți oblice de fibre de colagen. *Celulele conjunctive,* denumite *celule corneene,* se aplică strîns pe lamelele țesutului propriu, au o formă stelată cu multe prelungiri, ce se pun în contact cu prelungirile celulelor vecine. Citoplasma conține uneori incluziuni lipidice. Nucleul este rotund sau oval situat central. În cornee pot apărea și unele celule de origine sanguină, migrate din vasele țesutului sclero-corneean. *Substanța fundamentală* este relativ puțină, conține apă, proteine, mucopolizaharide. La nivelul ei circulația lichidului tisular este foarte vie.

Tecile conjunctive ale firului de păr, înconjură rădăcina și porțiunea incipientă a tijei părului. La perii adulți, de diametru mare, se disting la nivelul tecii fibroase două straturi: unul intern bogat în celule și în fibre conjunctive așezate circular și unul extern, în care fibrele au o direcție longitudinală.

Tecile conjunctive ale nervilor sînt formate din țesut conjunctiv, în care fibrele colagene sînt așezate în lamele conjunctive, ca și în țesutul propriu al corneei. Printre aceste lamele se găsesc celule conjunctive turtite și puțină substanță fundamentală. Țesutul conjunctiv astfel orientat formează teci în jurul nervilor și a unor corpusculi nervoși incapsulați.

Țesuturile conjunctive orientate de alunecare.

Capsula articulară și ligamentele formează o învelitoare în jurul articulațiilor. Ea este formată din fascicule de fibre colagene, așezate paralel între ele. Orientarea grupelor de fascicule din capsulă este determinată de direcția forțelor mecanice ce se exercită asupra articulației respective. Capsula este în general subțire, dar se îngroașe din loc în loc, constituind ligamente. În unele puncte, țesutul capsulei conține mici zone adipoase care proemină în interiorul cavității articulare.

Culisele tendinoase formează teci conjunctive de-a lungul tendonului. Între tendon și teaca respectivă se formează o cavitate neregulată, compartimentată prin bride conjunctive. Micile compartimente ce se formează comunică între ele și conțin un lichid clar. Peretele conjunctiv intern al cavității ce vine în contact cu tendonul este mai subțire, iar peretele extern al cavității este mai gros. În culisele tendinoase, fibrele conjunctive sînt de natură colagenică și sînt orientate în raport cu forțele continue la care sînt supuse.

Sinovialele articulare sînt foițe subțiri conjunctive ce căptușesc fața internă a capsulei articulațiilor mobile (diartroze). Partea externă a sinovialei care privește către capsula articulară este mai densă, prezintă fibre colagene mai numeroase orientate și rare fibre elastice. Printre fibre pot apărea, uneori, celule adipoase în număr variabil. Partea internă a sinovialei care privește înspre cavitatea articulară este formată din țesut lax cu fibre mai puține, dar cu substanță fundamentală și celule mai abundente. Înspre cavitate, celulele conjunctive se lățesc formînd un strat continuu, sau discontinuu, care delimitează membrana sinovială înspre interiorul cavității articulare. Celelalte celule din

ţesutul conjunctiv lax au o formă în general globuloasă, pe alocuri se înconjură cu o capsulă şi iau aspectul celulelor cartilaginoase, fapt pentru care au şi fost denumite celule condroide. De pe faţa internă a sinovialei pornesc către cavitatea articulară prelungiri care alcătuiesc franjurii sau ciucurii sinoviali. Ei sînt constituiţi dintr-un ax conjunctiv foarte vascularizat, care este acoperit de un rînd de celule conjunctive turtite. La nivelul franjurilor se elaborează lichidul sinovial, de aspect albicios, filant. Acesta provine din sînge şi din activitatea secretorie a celulelor sinoviale. Sinoviala este o membrană foarte rezistentă la tracţiune, iar lichidul sinovial care, de obicei, este puţin abundent, uşurează alunecarea suprafeţelor articulare şi constituie în acelaşi timp un mediu nutritiv pentru cartilajul articular.

Scanned with OKEN Scanner

ŢESUTUL CARTILAGINOS

Ţesutul cartilaginos împreună cu ţesuturile conjunctive şi ţesutul osos face parte din ţesuturile cu funcţie mecanică, caracterizate prin compoziţia chimică şi prin proprietăţi fizice deosebite: rezistenţă elastică la presiune şi mare rezistenţă mecanică la frecare. Datorită acestor proprietăţi, ţesutul cartilaginos formează organe de susţinere permanente, alcătuind în întregime scheletul unor vertebrate (ciclostomi); la altele, printre care şi la om vor forma scheletul numai în mod tranzitoriu, transformîndu-se apoi în ţesut osos. Deşi consistent, ţesutul cartilaginos poate fi tăiat uşor cu cuţitul. Ţesutul cartilaginos este de origine mezenchimală şi ia naştere prin metaplaia ţesutului conjunctiv, în momentul în care asupra acestuia acţionează diferite forţe mecanice. Cartilajul este învelit la periferie de o membrană fibroasă, puţin vascularizată numită pericondru.

Ţesutul cartilaginos este format din celule, substanţă fundamentală şi fibre.

Componenta cea mai abundentă a ţesutului cartilaginos, căreia i se datoresc proprietăţile mecanice (elasticitate şi rezistenţă mecanică) este dată de ansamblul format din substanţa fundamentală şi fibre care poartă denumirea de *substanţă cartilaginoasă* sau *matricea cartilajului*. În ea sînt săpate cămăruţe *(condroplaste)* care adăpostesc celulele cartilaginoase. Celulele cartilaginoase mature se numesc condrocite, iar elementele tinere condroblaste.

Condrocitele sînt celule mari de origine mezenchimală cu un diametru de peste 40 microni. Nucleul de formă rotundă sau ovală este aşezat central şi conţine unul sau mai mulţi nucleoli; cromatina este dispusă sub formă de grăunţe mari. Citoplasma este abundentă, clară, în ea se găsesc organitele celulare comune: *condriom* sub formă de filamente uniform răspîndite în celulă; un *complex Golgian* sub formă de saci turtiţi şi microvezicule; un *reticul endoplasmatic* de tip rugos, uneori destul de abundent, conferind o bazofilie intensă citoplasmei. În afară de organite, în citoplasmă se întîlnesc diferite incluziuni. Dintre acestea, cele mai abundente apar sub formă de picături lipidice, foarte numeroase, în unele celule ocupînd întreaga citoplasmă; în alte celule

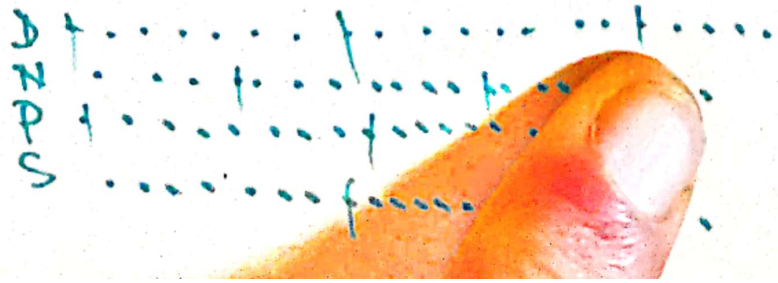
sînt semnalate şi incluziuni de glicogen în cantităţi variabile. Citoplasma unor condrocite poate să conţină şi cîteva vacuole clare colorabile în roşu neutru, situate de obicei în ectoplasmă. Condrocitele pot apărea în cartilaj, fie izolate, avînd o formă rotundă globuloasă, fie aşezate în grupuri de 2, 3 sau 4 celule, prezentînd forme emisferice sau unghiulare datorită presiunii lor reciproce. Celulele apar cu atît mai turtite cu cît sînt aşezate mai aproape de pericondru. La limita dintre cartilaj şi pericondru se găsesc forme celulare intermediare între condrocite şi fibroblastele obişnuite. Grupele condrocitare poartă denumirea de *grupe izogene*, datorită faptului că acestea iau naştere prin diviziunea unei singure celule. După aranjamentul celulelor în grupul respectiv, aranjament datorit forţelor ce acţionează asupra lor, ele se împart în *grupe izogene axiale* şi *grupe izogene coronare*. Primele se întîlnesc în procesul de osificare encondrală, în faza de preparare a cartilajului hialin pentru osteogeneză (celulele sînt aşezate una sub cealaltă ca monedele într-un fişic); asupra lor, forţele mecanice se exercită într-o singură direcţie. În grupele izogene coronare, celulele sînt aşezate radiar, datorită faptului că asupra acestor grupe presiunea se exercită din mai multe direcţii; ele se întîlnesc în special la nivelul cartilajelor costale. *Pereţii condroplastelor*, cămăruţele în care sînt adăpostite condrocitele sînt acoperiţi de o capsulă ce prezintă reacţii particulare de colorabilitate. Ea prezintă şi o bazofilie puternică, datorită unei concentraţii crescute de acid condroitin sulfuric. Capsula este subţire şi poate fi considerată ca o condensare a substanţei fundamentale la acest nivel. *Substanţa cartilaginoasă* este alcătuită din substanţa fundamentală şi fibre. La microscopul luminescent apare amorfă, omogenă şi bazofilă, în ea fiind săpate cămăruţele ocupate de celulele cartilaginoase. Aspectul amorf, omogen este datorit faptului că fibrele nu sînt vizibile pe preparatele obişnuite din cauza indicelui lor de refracţie care se suprapune pe acela al substanţei fundamentale. Pentru a le evidenţia este necesar să se îndepărteze substanţa fundamentală; se utilizează în acest scop digestia cu tripsină, tratarea cu o soluţie de clorură de sodiu sau permanganat de potasiu. Fibrele mai pot fi evidenţiate prin examinare în lumina polarizată, ele fiind birefringente sau prin tehnica impregnărilor argentice. Substanţa fundamentală conţine *săruri minerale* dintre care NaCl în cantitatea cea mai mare (95% din cenuşa uscată a cartilajului), *apă* 70% din greutatea sa şi *substanţe organice* reprezentate în special prin substanţe mucopolizaharidice. Dintre acestea, *acidul condroitin sulfuric* este în cantitatea cea mai ridicată pînă la 35—40% din greutatea uscată; el se prezintă sub formă de macromolecule foarte alungite cu o greutate moleculară mare de 620 000 şi cu un diametru de 4 700 Å. Macromoleculele de acid condroitin sulfuric se dispun sub formă de filamente răsucite în ghem în jurul grupelor izogene. În substanţa cartilaginoasă, acidul condroitin sulfuric se găseşte liber sau legat de proteine, în complexul condromucoid. Acesta este bazofil, PAS pozitiv, şi se colorează metacromatic cu albastru de toluidină. În cartilajul tînăr se găseşte o cantitate mare de acid condroitin sulfuric liber şi o cantitate redusă de condromucoid; pe măsură ce cartilajul îmbătrîneşte proteinele devin foarte abundente, iar tinctorialitatea cartilajului variază înspre acidofilie. Dintre cele trei tipuri de acid condroitin sulfuric A, B şi C în cartilaj se găseşte numai forma A şi C. În afară de acizii condroitini

Scanned with OKEN Scanner

sulfurici, substanța fundamentală a cartilajului mai conține și alte mucopolizaharide, ca acidul mucoitin sulfuric, care este un mucopolizaharid nesulfatat. *Proteinele* din țesutul cartilaginos sînt bogate în sulf. Absente în cartilajul fetal, ele apar după naștere și cresc în cantitate o dată cu vîrsta.

Fibrele țesutului cartilaginos hialin sînt de obicei fibre colagene fine, dispune uneori neregulat, alteori în cartilajul supus forțelor mecanice ele iau direcții și orientări precise. În jurul condroplastelor, fibrele se condensează într-o dispoziție concentrică, iar printre grupele celulare, fasciculele se răspîndesc în evantai. Sistemul de fibrile colagene ce înconjură grupul izogen împreună cu substanța fundamentală din această zonă și cu celulele respective constituie unitatea morfofuncțională cartilaginoasă, denumită *condron*. Dispoziția particulară a fibrelor colagene în cartilaj, în special în zona condroplastică, este extrem de favorabilă funcțiilor mecanice ale cartilajului, ca și dispoziția laxă a fibrelor între condroplaste care ajută la dispersia forțelor ce se exercită pe suprafața cartilajului. Acest aranjament fibrilar permite și ușurează în același timp difuziunea lichidelor, asigurîndu-se astfel troficitatea țesutului cartilaginos. Cu cît fibrele colagene sînt așezate mai lax și sînt mai subțiri, cu atît este mai mare capacitatea de hrănire a țesutului cartilaginos, care este în general un țesut lipsit de vase sanguine și limfatice. Ocazional în cartilajele mari pot fi observate vase de pasaj, care folosesc acest țesut numai pentru trecerea spre alte destinații, asigurînd în același timp nutriția cartilajului prin difuziune. Este de remarcat însă, repeziciunea cu care se răspîndesc diferitele substanțe în matricea cartilaginoasă vie. Aceasta ține și de aranjamentul molecular al acidului condroitin sulfuric.

La periferie, țesutul cartilaginos este acoperit de un țesut conjunctivo-vascular, denumit *pericondru* — format dintr-un strat extern vasculo-fibros și un strat intern juxta cartilaginos condrogen în care predomină celule. Creșterea cartilajului se face prin adăugarea de noi straturi la periferie (*creștere prin apoziție*) sau prin multiplicarea condrocitelor din grupele izogene (*creșterea interstițială*). Creșterea prin apoziție se realizează de către fibroblastele pericondrului care se multiplică și se transformă treptat în celule cartilaginoase; acestea încep să sintetizeze și să depună substanța cartilaginoasă în jurul lor. Creșterea prin apoziție se efectuează în mod continuu pînă în momentul cînd cartilajul a ajuns la deplină maturitate. În creșterea interstițială, celulele cartilaginoase se multiplică activ prin mitoză și se formează grupe de 2, 4, 8 condrocite care vor depozita în jurul lor substanță fundamentală și fibre. Creșterea interstițială se întîlnește în special în cartilajele foarte tinere. Dispoziția condrocitelor și a grupelor izogene precum și lipsa de mitoze în celulele cartilajului adult și bătrîn arată că la această vîrstă ele nu se mai divid, procesul de creștere este încheiat. *Regenerarea cartilajului* este foarte slabă. În rare cazuri se poate reproduce matricea cartilaginoasă. Fibroblaștii se vor transforma în condroblaste, iar aceștia, după ce elaborează în jurul lor substanță fundamentală cartilaginoasă, se vor transforma în condrocite. Pierderea de cartilaj este de obicei înlocuită cu țesut conjunctiv derivat din pericondru. O fractură de cartilaj matur se consolidează prin țesut fibros care se poate transforma după un oarecare timp direct în țesut osos.



Cartilajul suferă cu vîrsta procese regresive; cele mai des întîlnite sînt mineralizarea (calcificarea) şi transformarea azbestică. Calcificarea este un proces strîns legat de ţesutul cartilaginos; în mod normal acesta reprezintă procesul de osteogeneză encondrală. La vîrstă înaintată însă, cartilajul poate suferi o simplă infiltraţie anarhică cu săruri de calciu, devenind cartilaj dur, calcificat. Acest proces are loc numai după ce celulele cartilaginoase degenerează. Este un fenomen întîlnit în special la bătrîni cu predominenţă în unele cartilaje ale laringelui. *Transformarea azbestică:* în substanţa omogenă intercelulară apar fibre cu aspecte şi caracteristici diferite de ale fibrelor colagene (nu se dizolvă în acizi şi în apă clocotită şi alcali. Dau cartilajului aspectul de azbest cu apariţia unor spaţii goale, în care în unele împrejurări poate să apară şi să se dezvolte cartilajul normal.

Histofiziologia cartilajului. Rol metabolic. Cartilajul este un ţesut cu o vie activitate care reflectă starea fiziologică locală şi a organismului. El este un indicator foarte sensibil al unor tulburări în metabolismul proteinelor, mineralelor sau vitaminelor. Lipsa de vitamina C opreşte formarea şi dezvoltarea reticulului endoplasmic în celulele cartilaginoase, iar în perioada de creştere a oaselor inhibă formarea matricei la nivelul discului epifizodiafizar. Avitaminoza D ca şi lipsa de calciu şi fosfor atrag după sine oprirea în creştere a cartilajului, tulburînd procesul de osificare encondrală. Avitaminoza A ca şi lipsa de proteine în alimentaţie duc la diminuarea în grosime a cartilajului, în special a celor diafizoepifizare. Dimpotrivă, excesul de vitamina A accelerează creşterea normală. Formarea şi participarea cartilajului în osteogeneză este controlată de unii hormoni cu rol stimulator asupra activităţii condroblastelor (parat hormonul, hormonul somatotrop — anterohipofizar). *Rol mecanic.* Datorită proprietăţilor fizice — rezistenţă, rigiditate — cartilajul reprezintă un ţesut de suport pentru alte structuri şi organe. Are rol în creşterea oaselor în lungime şi constituie modelul viitoarelor oase. Datorită prezenţei în substanţa fundamentală a acizilor condroitini sulfurici, care au o mare afinitate pentru apă, precum şi datorită dispoziţiei lor macromoleculare în ghem (dispoziţie asemănătoare cauciucului) anihilează forţele mecanice la care este supus cartilajul. Cartilajul articular ia parte împreună cu oasele la formarea scheletului, permiţînd acestora grade variabile de mobilitate.

Cartilajul matur se prezintă în organism sub trei aspecte: *hialin, elastic* şi *fibros.*

Cartilajul *hialin* este forma de cartilaj cea mai frecvent întîlnită în corpul omenesc, la embrion constituie în exclusivitate scheletul pe cea mai mare durată a vieţii intrauterine; la adulţi este prezent în unele oase din scheletul nasului, în treimea internă a coastelor, în cartilajele articulare, în cartilajele laringelui, traheei, bronşiilor mari; la unele vertebrate îl găsim în sclerotică. În condiţii patologice, însă, se poate diferenţia din ţesutul conjunctiv la diferite vîrste şi în alte regiuni (în tonsilă la om). Caracterele morfologice şi funcţionale corespund structurilor descrise mai sus (fig. 108).

Cartilajul elastic se găseşte în zonele în care se cere o mare flexibilitate a ţesuturilor respective, ca în pavilionul urechii externe, pe o anumită porţiune a tubului Eustache, în epiglotă, în cartilajele corniculate, cuneiforme şi aritenoide

Scanned with OKEN Scanner

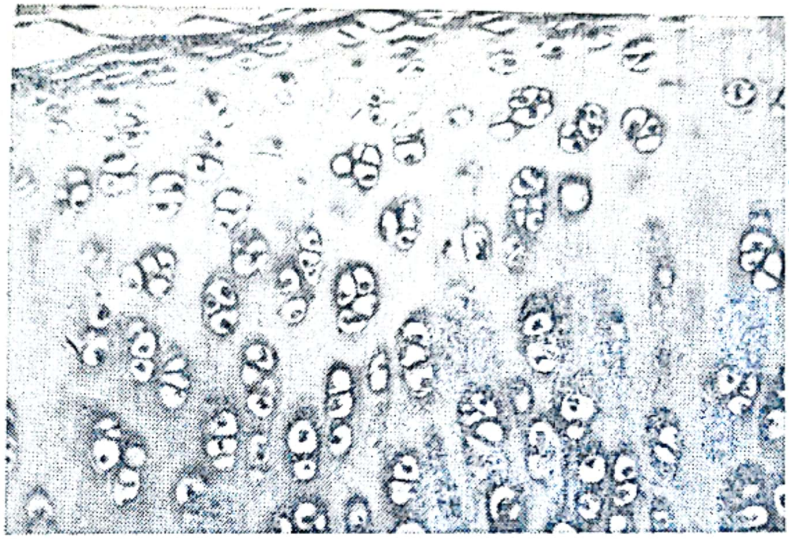
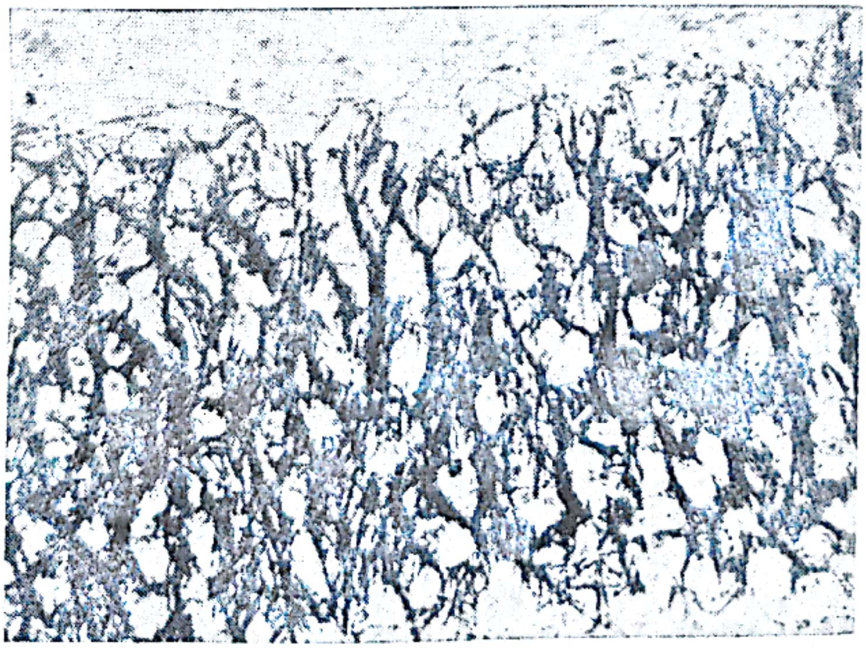


Fig. 108. Cartilaj hialin.

ale laringelui. Cartilajul elastic este compus din aceleaşi elemente ca şi celelalte tipuri de ţesut cartilaginos, dar în matrice, pe lîngă substanţa fundamentală şi fibrele colagene obişnuite, se găseşte o reţea abundentă de fibre elastice al căror număr şi grosime variază de la o regiune la alta în funcţie de organul respectiv. Cartilajul elastic cuprinde reţele fibrilare mai dense în centrul lui faţă de zona periferică, unde fibrele elastice sînt mai rare şi cu un aspect mai lax. Uneori fibrele elastice sînt în număr foarte mare, încît maschează complet substanţa fundamentală. Cartilajul elastic are culoare galbenă, datorită conţinutului mare în fibre elastice (fig. 109).

Fig. 109. Cartilaj elastic col. orceină.



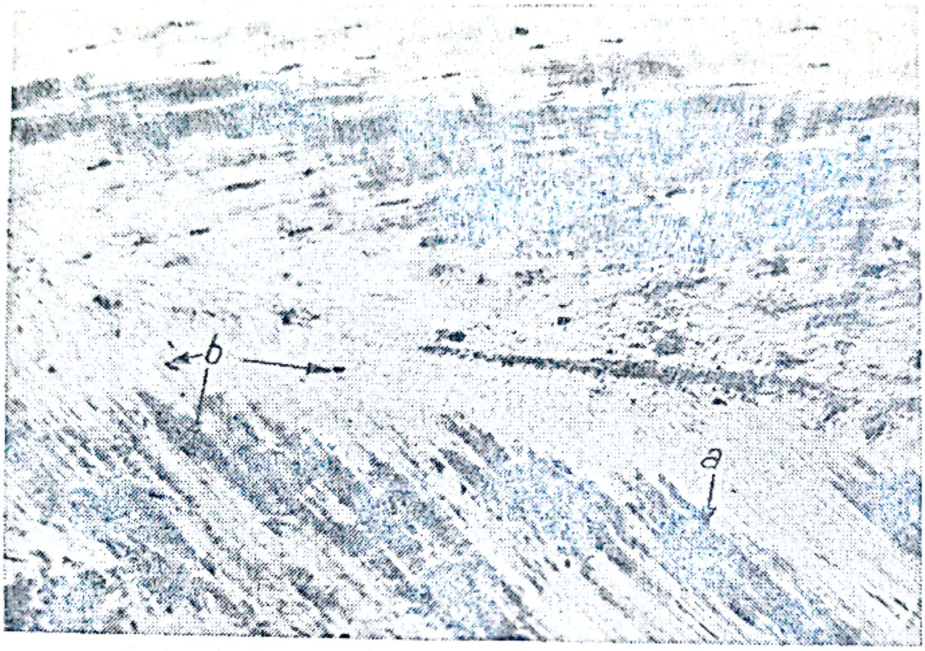


Fig. 110. Cartilaj fibros:
a — fibre colagene; b — nucleii condrocitelor.

Cartilajul fibros, la mamifere este puţin reprezentat, fiind găsit numai în: discurile intervertebrale, simfiza pubiană, la locul de unire al anumitor tendoane cu osul; este de aparenţă densă, fibroasă. În structura sa vom întîlni, ca şi în celelalte tipuri de cartilaje, condrocite izolate sau în grupe izogene, dar în număr mult mai redus; substanţa cartilaginoasă conţine un număr foarte mare de fibre colagene, aşezate paralel între ele şi grupate în benzi ce se întîlnesc cu cele vecine lor în unghi ascuţit. În acest unghi, de obicei sînt situate celulele cartilaginoase, de cele mai multe ori aşezate în şiruri longitudinale. O capsulă intens colorabilă mărgineşte condroblastele (fig. 110). Cartilajul fibros poate fi socotit ca o formă intermediară între ţesutul conjunctiv dens şi cartilaj. Această idee se bazează pe observaţiile dezvoltării ţesutului conjunctiv şi cartilaginos, la embrion, precum şi pe faptul că, la adulţi, fibrocartilajul nu se găseşte niciodată singur, ci întotdeauna în continuarea unui cartilaj hialin sau unui ţesut conjunctiv fibros.

ŢESUTUL OSOS

La metazoarele superioare şi la om, ţesutul osos formează în cea mai mare parte scheletul corpului (sînt incluse aici şi oasele sesamoide ale tendoanelor şi ligamentelor). La unele animale se întîlnesc fragmente de ţesut osos şi în unele organe, cum ar fi inima rumegătoarelor, muşchiul diafragmatic al camelidelor sau sclerotica unor păsări. Ca o varietate de ţesut osos menţionăm unele ţesuturi dure ale organului dentar: dentina şi cimentul. În condiţii patologice, poate să se formeze ţesut osos prin metaplazia ţesutului conjunctiv în oricare organ. Ţesutul osos are o culoare albă-gălbuie, este foarte consistent şi foarte rezistent. Suportă presiunea unei greutăţi pînă la 15 kg/mmc şi tracţiunea la o forţă de 10 km/mmc. Este un ţesut filogenetic şi ontogenetic mai recent decît ţesutul conjunctiv propriu-zis şi ţesutul cartilaginos. În alcătuirea ţesutului osos intră: celule osoase şi substanţa osoasă. Substanţa osoasă este compusă din fibre conjunctive, substanţă fundamentală şi săruri minerale.

Celulele osoase. În ţesutul osos se întîlnesc trei tipuri de celule: osteoblastele — celule osoase tinere, osteocitele — celule osoase adulte şi osteoclastele. Deşi cu caractere morfologice şi funcţionale diferite, cele trei tipuri celulare menţionate, reprezintă în realitate una şi aceeaşi celulă care se modifică structural în raport cu momentul fiziologic local al ţesutului osos. *Osteoblastul,* celulă de origine mezenchimală, are un diametru variabil între 15 şi 20 microni. Nucleul celulei este aşezat excentric şi prezintă un nucleol mare. În apropierea lui se descrie o zonă Golgi foarte dezvoltată, ce atinge aproape talia nucleului. În citoplasmă se găsesc numeroase mitocondrii, un reticul endoplasmatic de tip rugos foarte abundent şi granule ribozomice libere numeroase care conferă o bazofilie intensă citoplasmei. Uneori, în celulă se evidenţiază incluziuni lipidice sub formă de picături şi granule metacromatice mucopolizaharidice. Osteoblastul posedă o bogată activitate enzimatică, şi anume: fosfataza alcalină, ATP-ază, enzime oxidoreductorii şi unele hidrolaze acide.

Prezenţa osteoblastului este strîns legată de procesul de osteogeneză. Celula se diferenţiază din celulele conjunctive mezenchimale sau din fibroblaste, nu-

Scanned with OKEN Scanner

mai în momentul în care ţesutul conjunctiv sau ţesutul cartilaginos se prepară pentru procesul de osteogeneză. În acest scop, celulele conjunctive din care derivă îşi amplifică activitatea elaboratorie şi secretorie, îşi schimbă forma luînd un aspect ce aminteşte celula epitelială — aspect epiteloid — şi se aşează de obicei în şiruri paralele la suprafaţa traveelor conjunctive. Osteoblastul nou format, va secreta preoseina, substanţa fundamentală de bază a ţesutului osos în care se vor depune sărurile de calciu. Pe măsura apariţiei osului, o parte din osteoblaste rămîn incluse în ţesutul nou format, se maturează şi devin celule adulte osoase = osteocite, în momentul în care procesul osteogenetic se încheie. Osteoblastele rămase în afara ţesutului osos, îşi reiau forma lor iniţială de celule conjunctive, păstrînd aceleaşi potenţialităţi de reactivare care vor permite celulei să redevină activă în momentul în care este solicitată (în caz de fracturi).

Osteocitul este celula matură a ţesutului osos aşezată în nişte cămăruţe de formă lenticulară, săpate în substanţa osoasă, care se numesc *osteoplaste*. Celulele iau naştere prin maturarea osteoblaştilor. În ţesutul osos, ele apar de vîrste diferite, dar cel care predomină este osteocitul adult. Celula are formă lenticulară ca cea a osteoplastului, în care se găseşte. Suprafaţa celulei osoase este prevăzută cu mai multe prelungiri ce pătrund în canaliculele osoase ce pornesc din fiecare osteoplast. Prin aceste prelungiri citoplasmatice, osteocitele stabilesc legături de contact între ele. Celula este delimitată de o membrană plasmatică obişnuită, rectilinie la unele osteocite sau pronunţat sinuoasă la altele, fapt ce ţine şi de forma pereţilor osteoplastului care găzduiesc celulele (se descriu osteoplaste cu pereţi netezi şi altele cu pereţi rugoşi, neregulaţi). La suprafaţa celulei, plasmalema poate prezenta prelungiri de diferite mărimi şi microvilozităţi. Nucleul osteocitelor ocupă cea mai mare parte din celulă, iar citoplasma este puţin abundentă. În ea se găsesc mitocondrii mici ovale, un reticul endoplasmic în special de tip neted, ce formează un sistem de cisterne largi. Complexul golgian ocupă o zonă perinucleară destul de largă, fiind compus din saci turtiţi şi rare microvezicule. În citoplasmă pot apărea incluziuni de glicogen, de lipide şi unele granule secretorii. Prezenţa acestora în citoplasmă, arată că osteocitul nu trebuie privit ca o celulă în repaus sau epuizată, ci, dimpotrivă, ca o celulă în activitate secretorie, capabilă de a interveni în metabolismul local al osului. Între osteocite şi peretele osos există un spaţiu de aproximativ 800 milimicroni, în care este semnalată prezenţa unui complex mucopolizaharidic — proteină, asemănătoare celui din substanţa fundamentală a ţesutului conjunctiv. În unele osteoplaste mai mari şi în cele cu perete rugos se descrie în acest spaţiu şi o fină textură fibrilară. Acest complex MPZ interpus între osteocit şi peretele osteoplastic poate juca un rol de membrană bazală, condiţionînd schimbul de substanţe dintre sînge şi constituenţii ţesutului osos. Este prezent astfel în os un larg sistem lacunocanalicular prin care se efectuează difuzarea metaboliţilor, proces la care participă în mare măsură osteocitul. *Osteoclastul* — mieloplax — policariocit. Este o formă diferenţiată a celulei osoase cu rol activ în osteogeneză. Este un element multinucleat (poate conţine pînă la 100 nuclei); aceştia sînt săraci în cromatină.

Celula are o talie gigantică şi o formă neregulată. Ia naştere în perioada embrionară exclusiv din celulele mezenchimale ale ţesutului medular primitiv, mai tîrziu se poate dezvolta din osteoblaste şi în anumite situaţii chiar din osteocite. În faza de activitate, osteoclastul prezintă o margine în perie îndreptată spre suprafaţa de resorbţie osoasă. Membrana plasmatică mai poate prezenta repliuri cu numeroase vezicule în apropierea lor, trădînd un intens proces de pinocitoză. În citoplasma celulei se găseşte un reticul endoplasmatic mai redus, o zonă Golgi mică lîngă nucleu, mitocondrii numeroase şi rare granule dense. În citoplasmă pot fi observate numeroase vacuole uniform distribuite, cu un diametru de 100—200 Å, delimitate de o membrană bine evidenţiată, dense la fluxul de electroni, fiind socotite granule de calciu resorbite prin pinocitoză. În celulă au fost localizate intense activităţi enzimatice, printre care fosfataza acidă, β-glucuronidaza, enzime oxidoreductorii ale glicolizei aerobe şi anaerobe. Osteoclastul intervine numai în procesul de osteogeneză şi numai după ce au fost constituie primele lamele osoase. Acestea sînt depuse anarhic, fără un aranjament regulat, şi au nevoie de a fi remaniate în vederea constituirii osului definitiv, acţiune desăvîrşită de către osteoclast, care intervine în special printr-o activitate resorbtivă. O dată procesul de osificare încheiat, celula devine mai puţin activă, pierde marginea în perie, organitele celulare sînt mai reduse ca şi activitatea enzimatică. Osteoclastul intră într-o stare de repaus, fiind cantonat în lacunele osoase ale lui Howship. Îşi păstrează însă întreaga capacitatea de a redeveni la celula activă, în cazul cînd se cere formarea unui calus osos în oasele fracturate.

Substanţa fundamentală — oseina — apare amorfă la microscopul optic şi fin granulară sau filamentoasă la microscopul electronic, datorită predominenţei în componenţa ei a acizilor condroitinsulfurici. Afinitatea pentru sărurile anorganice de calciu ca şi gradul de osificare al oseinei depind în cea mai mare măsură de starea de polimerizare sau de depolimerizare a substanţelor mucopolizaharidice. Singură concentraţia mucopolizaharidelor însă, nu poate explica în totalitate afinitatea pentru calciu a substanţei fundamentale, altfel cartilajul hialin care este bogat în substanţe, ar fi în mod continuu supus transformării osoase.

Fibrele întîlnite în ţesutul osos sînt de natură colagenă, luînd denumirea de fibre osteocolagene. Ele prezintă aceleaşi caracteristici structurale, ultrastructurale, ca şi fibrele conjunctive obişnuite. În ţesutul osos, ele se prezintă sub formă de fibre fine cu un diametru de 3—5 microni, adesea unite în mici benzi fără orientare precisă.

Substanţa minerală se găseşte în ţesutul osos adult în proporţie de 65—70%. Acest procent variază însă în raport cu vîrsta, este mai scăzută în osul embrionar (35%) sau în diferite stări patologice (în osteomalacie). Sărurile anorganice sînt reprezentate în substanţa minerală în special prin fosfaţii de calciu care se găsesc sub formă de hidroxiapatită. La microscopul electronic, sărurile de calciu apar sub formă de cristale aciculare de 40 Å/200 Å, de formă hexagonală sau circulară în secţiune transversală, orientate cu axul lor mare în lungul fibrelor colagene.

Clasificarea ţesutului osos. În organism, ţesutul osos se prezintă sub două aspecte:

Ţesutul osos Hawersian compact. Este format din numeroase canale denumite canalele lui Hawers cu un diametru ce variază între 9 şi 400 microni, cele mai multe avînd în medie 20—110 microni. Canalele parcurg osul pe toată lungimea lui, sînt paralele între ele şi legate în numeroase puncte prin anastomoze transversale sau oblice. Canalele anastomotice sînt cunoscute sub denumirea de canale Wolkmann. Canalele cele mai interne ale diafizei osoase se deschid liber în cavitatea medulară, cele externe sub periost, iar cele vecine cartilajului articular sau inserţiei tendonului se termină în forma unui fund de sac. Pe secţiune transversală apar de formă rotundă sau ovală cu calibre inegale. În raport cu diametrul respectiv, în interiorul lor se găsesc elemente conjunctivovasculare şi medulare.

Astfel, canalele Hawers de dimensiuni mici conţin în lumen un singur capilar şi o atmosferă conjunctivă extrem de fină formată din fibrile conjunctive gracile. În canalele mari sînt prezente vase sanguine (o arteriolă şi o venulă), vase limfatice, fibre reticulinice, măduva osoasă şi filetele nervoase amielinice. Datorită bogatelor anastomoze ce leagă între ele canalele Hawers, există pericolul ca în caz de infecţie a unei zone osoase, aceasta să se propage cu uşurinţă la întregul ţesut osos. În jurul fiecărui canal Hawers se organizează ţesutul osos sub formă de lamele osoase concentrice, variabile ca număr (8—15), în mod excepţional 22.

În jurul canalelor Hawers mai groase se află şi un număr mai mare de lamele osoase. Lamelele osoase au o grosime de 4,5—11 microni fiecare. Ele sînt constituie din fibrile colagene subţiri de 3 microni, înglobate în substanţa calcificată. Ansamblul format de canalul situat central şi lamelele osoase ce îl înconjură împreună cu toate componentele organice ce se află în aceste formaţiuni, alcătuieşte unitatea morfofuncţională, *numită osteon.* În lumina polarizată în jurul fiecărui canal al lui Hawers, lamelele osoase ale osteonului respectiv apar într-o alternanţă regulată obscură şi clară. Osteonul este astfel format dintr-un aranjament de lamă osoasă întunecată alături de o lamă osoasă luminată; succesiunea acestora în jurul canalului lui Hawers se realizează foarte regulat. Acest fenomen optic se datoreşte direcţiei diferite de orientare a fibrelor colagene din fiecare lamelă osoasă. În timp ce în unele lamele fibrilele conjunctive sînt paralele cu axul lung al osului, în altele acestea sînt aşezate circular, deci perpendicular pe ax. Pe secţiune transversală, primele apar punctiforme, sau mai puţin refringente, şi dau aspectul de lamelă întunecată, polarizează lumina — sînt anizotrope; celelalte apar în toată lungimea lor, sînt mai refringente, alcătuiesc lamela clară şi nu polarizează lumina — sînt izotrope. În lumina polarizată, la examenul cu nicolii încrucişaţi, osteonul sau sistemul Hawersian în totalitatea lui dă o imagine caracteristică, denumită imaginea crucii de Malta. În grosimea lamelelor osoase şi uneori între lamele se găsesc săpate cămăruţele osoase (osteoplastele), ce adăpostesc osteocitele. Fiecare osteoplast prezintă trei diametre: unul major longitudinal de 22—52 microni, un diametru mediu sau transversal de 6—14 microni şi un diametru minor (de grosime) de 4—9 microni. Aceste lacune osoase au o orientare destul de regulată în grosimea lame-

Scanned with OKEN Scanner

sist. fundamental periostal. ext.

lelor osoase, în sensul că diametrul major este paralel cu canalul lui Hawers, cel mediu dispus concentric în jurul canalului. Pe secțiunea transversală ele apar numai din profil, unele fiind secționate în axul major, altele în axul mediu transversal. De la fiecare osteoplast pleacă prelungiri în toate direcțiile, sub formă de canalicule osoase, care fac legătura cu formațiuni asemănătoare ale lamelei învecinate, stabilind un sistem de anastomoză a întregului osteon. Canaliculele osteoplastelor lamelei osoase interne se deschid în canalul lui Hawers, a lamelei osoase periferice a osteonului, se pot termina orb sau se pot recurba în cea mai mare parte, întorcîndu-se în locul de emergență. Unele din ele fac legătura cu canaliculele osteoplastelor din osteoanele vecine. Peretele lacunelor osoase poate fi neted sau rugos sinuos, indicînd variate fenomene locale de apoziție și resorbție intralacunară. În osteoplaste sînt localizate osteocitele, care își trimit prelungirile citoplasmatice în canaliculele osoase. Printre sistemele Hawersiene, în osul compact se mai întîlnesc fragmente osoase arciforme care fac legătura diferitelor osteoane între ele și care poartă denumirea de *sisteme interstițiale*. Ele sînt alcătuite din lamele osoase incomplete, de forma unor arcuri de cerc, fără să fie centralizate de un canal Hawersian. Ele sînt socotite rămășițele ale osteoanelor primitive, ce se formează în viața intrauterină și care rămîn în această formă incomplete în urma remanierii postnatale și a formării osului definitiv. O varietate de țesut osos compact este dată de *sistemele fundamentale* care se întîlnesc de obicei în diafaza oaselor lungi. La suprafața externă se află *sistemul fundamental periostal extern*, iar către cavitatea medulară, *sistemul fundamental intern sau endostal*, primul fiind mai dezvoltat decît al doilea. Sistemele fundamentale sînt formate din lamele paralele între ele și paralele cu axul lung al osului, rareori cu un aranjament concentric, dar fără a fi centrate de canale Hawers. Ele sînt traversate de canalicule fine denumite canalele lui Volkmann, care se deschid prin unul din capete sub periost sau sub endost și prin celălalt capăt se anastomozează cu canalele Hawersiene, putînd să conțină, ca și acestea, vase sanguine, limfatice și nervi.

Țesutul osos Hawersian spongios sau areolar prezintă lamele osoase incomplete, scurte, neregulate, încrucișate sau anastomozate anarhic, delimitînd spații intercomunicante destul de largi, de forme și mărimi variabile ce conțin măduvă osoasă.

Histofiziologia țesutului osos. Două funcții mari sînt legate de țesutul osos: *funcția mecanică și funcția metabolică*. Prima se datorește prezenței fibrelor colagene, dar mai ales prezenței în matricea osoasă a substanțelor minerale. Fibrele colagene, dau rezistența la tracțiune, sărurile de calciu rezistența la presiune, asigurînd în același timp duritatea și rigiditatea osului. Substanța organică a osului, în special substanța fundamentală permite și o deplasare microscopică în limite reduse a fibrelor colagene și a cristalelor de hidroxiapatită, asigurîndu-se în felul acesta un oarecare grad de suplețe a osului, necesar în presiunile sau tracțiunile locale. Gradul de polimerizare sau de depolimerizare a oseinei, legat de cantitatea de apă din țesutul osos, variază în mod fiziologic cu vîrsta, influențînd de asemenea posibilitatea de deplasare a fibrelor în interiorul ei. La copii, oasele sînt mai elastice, la bătrîni, ele pierd suplețea, deve-

Scanned with OKEN Scanner

sist. fundamental periostal ext.

lelor osoase, în sensul că diametrul major este paralel cu canalul lui Hawers, cel mediu dispus concentric în jurul canalului. Pe secțiunea transversală ele apar numai din profil, unele fiind secționate în axul major, altele în axul mediu transversal. De la fiecare osteoplast pleacă prelungiri în toate direcțiile, sub formă de canalicule osoase, care fac legătura cu formațiuni asemănătoare ale lamelei învecinate, stabilind un sistem de anastomoză a întregului osteon. Canaliculele osteoplastelor lamelei osoase interne se deschid în canalul lui Hawers, a lamelei osoase periferice a osteonului, se pot termina orb sau se pot recurba în cea mai mare parte, întorcîndu-se în locul de emergență. Unele din ele fac legătura cu canaliculele osteoplastelor din osteoanele vecine. Peretele lacunelor osoase poate fi neted sau rugos sinuos, indicînd variate fenomene locale de apoziție și resorbție intralacunară. În osteoplaste sînt localizate osteocitele, care își trimit prelungirile citoplasmatice în canaliculele osoase. Printre sistemele Hawersiene, în osul compact se mai întîlnesc fragmente osoase arciforme care fac legătura diferitelor osteoane între ele și care poartă denumirea de *sisteme interstițiale*. Ele sînt alcătuite din lamele osoase incomplete, de forma unor arcuri de cerc, fără să fie centralizate de un canal Hawersian. Ele sînt socotite rămășițele ale osteoanelor primitive, ce se formează în viața intrauterină și care rămîn în această formă incomplete în urma remanierii postnatale și a formării osului definitiv. O varietate de țesut osos compact este dată de *sistemele fundamentale* care se întîlnesc de obicei în diafaza oaselor lungi. La suprafața externă se află *sistemul fundamental periostal extern*, iar către cavitatea medulară, *sistemul fundamental intern sau endostal*, primul fiind mai dezvoltat decît al doilea. Sistemele fundamentale sînt formate din lamele paralele între ele și paralele cu axul lung al osului, rareori cu un aranjament concentric, dar fără a fi centrate de canale Hawers. Ele sînt traversate de canalicule fine denumite canalele lui Volkmann, care se deschid prin unul din capete sub periost sau sub endost și prin celălalt capăt se anastomozează cu canalele Hawersiene, putînd să conțină, ca și acestea, vase sanguine, limfatice și nervi.

Țesutul osos Hawersian spongios sau areolar prezintă lamele osoase incomplete, scurte, neregulate, încrucișate sau anastomozate anarhic, delimitînd spații intercomunicante destul de largi, de forme și mărimi variabile ce conțin măduvă osoasă.

Histofiziologia țesutului osos. Două funcții mari sînt legate de țesutul osos: *funcția mecanică și funcția metabolică.* Prima se datorește prezenței fibrelor colagene, dar mai ales prezenței în matricea osoasă a substanțelor minerale. Fibrele colagene, dau rezistența la tracțiune, sărurile de calciu rezistența la presiune, asigurînd în același timp duritatea și rigiditatea osului. Substanța organică a osului, în special substanța fundamentală permite și o deplasare microscopică în limite reduse a fibrelor colagene și a cristalelor de hidroxiapatită, asigurîndu-se în felul acesta un oarecare grad de supleță a osului, necesar în presiunile sau tracțiunile locale. Gradul de polimerizare sau de depolimerizare a oseinei, legat de cantitatea de apă din țesutul osos, variază în mod fiziologic cu vîrsta, influențînd de asemenea posibilitatea de deplasare a fibrelor în interiorul ei. La copii, oasele sînt mai elastice, la bătrîni, ele pierd supleța, deve-

Scanned with OKEN Scanner

nind friabile, poroase. Cantitatea de apă este mult mai crescută la nivelul lor pe măsura înaintării în vîrstă.

Activitatea metabolică. Osul este principalul rezervor de săruri minerale în organism (Ca, P). Forma lor aciculară şi aranjamentul în lungul fibrelor colagene determină crearea unui spaţiu inframicroscopic, cu rol în mişcarea locală a ionilor de calciu. Există o continuă mobilizare şi schimb de fosfaţi şi carbonaţi de calciu între ţesutul osos şi ţesutul conjunctiv al periostatului şi endostatului. Această mişcare ionică se face în funcţie de necesităţile organismului, de concentraţia calciului sanguin, ea însăşi dependentă în parte de aportul alimentar zilnic de calciu. Este comandată de acţiunea hormonului paratiroidian şi a unor vitamine (D_2), care în caz de exces sau insuficienţă pot produce modificări patologice în ritmul metabolismului calciului.

Structura osului. Fiecare os al scheletului, conţine cele două aspecte osoase (ţesut osos Hawersian şi ţesut osos compact), fiind deosebite numai în ceea ce priveşte proporţia dintre ţesutul osos compact şi spongios care intră în alcătuirea lor. Oasele scurte sînt formate din ţesut osos spongios acoperit la exterior de o margine subţire de ţesut osos Hawersian compact. Oasele lungi prezintă o diafiză formată din os Hawersian compact şi două epifize în care se găseşte os Hawersian spongios. Oasele late sînt formate la exterior din două plăci de os Hawersian compact (tăblii) ce închid între ele o lamă subţire de os Hawersian spongios (diploe).

Periostul înveleşte la periferie întregul os, cu excepţia capetelor sale articulare care sînt acoperite de cartilaje. Este o membrană de natură vasculoconjunctivă care prezintă din punct de vedere morfologic şi funcţional două straturi: *stratul extern vasculofibros,* în care predomină vasele şi fibrele de colagen cu celulele conjunctive rare. Este stratul cel mai consistent al periostului, fibrele colagene sînt orientate în toate direcţiile, pe alocuri paralele cu axul mare al osului respectiv. Se pot întîlni şi rare fibre elastice. *Stratul intern* — celular, în care predomină celulele conjunctive; fibre elastice şi fibre colagene ce provin din stratul extern sînt mai rare. Fibrele sînt grupate de cele mai multe ori în benzi ce pătrund în substanţa osoasă cu o direcţie perpendiculară pe aceasta. Fibrele colagene perpendiculare denumite *fibre perforante sau fibrele lui Sharpey,* rămîn strîns inclavate în ţesutul osos în care au pătruns, realizînd o sudură solidă a periostului la suprafaţa osoasă. Stratul intern poartă încă denumirea de strat osteogen, sau funcţional, ele avînd un rol important în elaborarea ţesutului osos ce intră în constituţia sistemelor fundamentale compacte. Funcţia osteogenă este caracteristică perioadei de formare a osului primar; la adult, periostul este în stare de repaus. El însă îşi recapătă întregul potenţial osteogenetic în caz de fracturi osoase sau în unele stări patologice legate de perturbările locale ale metabolismului calciului. În acest caz, celulele conjunctive ale stratului intern devin foarte active. Se observă frecvente mitoze în această zonă, fibrocitele se înmulţesc şi se diferenţiază în osteoblaste şi osteoclaste. Osteoblastele se aşază în palisadă, dînd stratului intern un aspect epiteloid. În acelaşi timp,

Scanned with OKEN Scanner

în stratul extern se observă o vascularizație crescută. O dată procesul de osteogeneză încheiat, stratul intern reintră în perioada de liniște, celulele se reduc ca număr și recapătă caractere de celule conjunctive obișnuite.

Endostul este stratul de țesut conjunctiv ce acoperă cavitățile medulare ale osului compact sau spongios. Este asemănător în structură cu periostul, la nivelul lui întîlnindu-se fibrile fine conjunctive, în special de reticulină, rare celule conjunctive și rare vase sanguine. Activitatea sporită la nivelul acestei membrane se observă către sfîrșitul vieții intrauterine și după naștere, contribuind la formarea țesutului osos al sistemului fundamental intern. La adult, endostul este foarte redus, aproape inactiv. În unele momente se poate reactiva în mică măsură și recăpăta foarte slabe funcții osteogenice sau hematopoetice. Practic, la adult, funcția endostului este foarte scăzută.

Măduva osoasă se află cuprinsă în toate cavitățile medulare din oase: în canalul medular principal din diafaza oaselor lungi, în spațiile intercomunicante neregulate din osul spongios și în canalele Hawers de calibru mai mare. Se descriu următoarele varietăți de măduvă osoasă: măduva roșie osteogenă, măduva roșie hematogenă, măduva galbenă adipoasă, măduva cenușie fibroasă, măduva cenușie gelatinoasă.

Măduva roșie osteogenă se găsește în zonele de osificare encondrală sau în lacunele Howship. Ea este formată dintr-o tramă fibrilară de reticulină, bogată în capilare sanguine de tip embrionar. În această rețea se găsesc celule conjunctive fixe, celule mobile, limfocite extravazate. Se întîlnesc cele două tipuri celulare responsabile de procesul de osteogeneză: osteoblastele și osteoclastele.

Măduva roșie hematogenă poate lua naștere din măduva roșie osteogenă. La făt se găsește în toate tipurile osoase, la adult se restrînge, rămînînd cantonată numai în țesutul osos spongios din epifiza unor oase lungi, din oasele late, în corpurile vertebrelor. Este formată dintr-un țesut reticular (fibre de reticulină, celule reticulare și capilare foarte dezvoltate de tip sinusoidal). În peretele capilar există pori mai mici intracitoplasmatici și pori mari intercelulari. Prin aceștia din urmă, în special, celulele sanguine ce iau naștere în măduva roșie, trec cu ușurință în curentul plasmatic. Se întîlnesc arteriole și venule, precum și șunturi arteriovenoase. Capilarele venoase sînt caracterizate prin lumenul lor larg și peretele endotelial foarte subțire. În apropierea vaselor se găsesc cuiburi celulare ce aparțin liniei hematocitare, granulocitare, megacariocitare. Celulele respective prezintă în citoplasmă bine reprezentate organitele celulare, semn al unei vii activități metabolice. Se întîlnește întreaga gamă celulară de dezvoltare a eritrocitelor, globulelor albe ale sîngelui, ale trombocitelor. S-a descris în măduva roșie hematogenă o bogată inervație perivasculară, semnalîndu-se chiar formațiuni nervoase incapsulate.

Măduva galbenă se formează din măduva roșie, prin transformarea celulelor conjunctive în lipocite care: i dau acesteia culoarea respectivă. Este măduva întîlnită la adult, în special în diafiza oaselor lungi. Lipocitele sînt așezate pe o rețea fină reticulară. În condiții speciale cu cerințe maxime de hematopoeză

Scanned with OKEN Scanner

în organism (anemii grave), măduva galbenă poate redobîndi caractere şi funcţiuni de măduvă roşie formatoare de celule sanguine. Măduva galbenă este considerată astfel, o măduvă cu posibilităţi de reactivare hematogenă.

Măduva cenuşie fibroasă se întîlneşte la bătrîni, unde se formează pe seama măduvei galbene. Celulele grase pierd conţinutul lipidic, reluînd caracterele celulelor conjunctive de bază.

Măduva cenuşie gelatinoasă apare în cazuri patologice de pronunţată slăbire a organismului, în caşexiile tuberculoase şi neoplazice. Celulele măduvei se aseamănă mai puţin cu cele conjunctive, se transformă sub acţiunea toxinelor eliberate, luînd un aspect de vezicule pline cu lichid. Este considerată măduvă patologică, ireversibil modificată prin boală, fără nici un fel de activitate locală şi fără posibilităţi de a recăpăta caractere de măduvă normală.

Vasele şi nervii osului. Arterele osului provin în cea mai mare parte din periost. De aici trec în canalele Hawersiene şi Wolkmann, distribuindu-se pe toată suprafaţa osoasă. Ele se termină cu capilare, ce se continuă mai departe cu venulele care urmează în sens invers acelaşi traiect ca şi al arteriolelor. Fiecare os posedă aparte o arteră nutritivă ce pătrunde în canalul nutritiv, ajungînd la măduva osoasă diafizară în care se ramifică dînd ramuri distale şi proximale. Au fost semnalate în os şi mici vase limfatice în unele canale osoase. Inervaţia este reprezentată prin filete nervoase localizate în special în periost. În osul propriu-zis, nervii motori întovărăşesc arteriolele în traiectul lor.

Măduva osoasă prezintă o bogată inervaţie amielinică sub formă de filete şi terminaţiuni nervoase butonate pe celulele endoteliale şi pe alte tipuri celulare medulare. Au fost semnalate terminaţii în formă de coşuleţ în jurul unor celule.

Osificarea — osteogeneza. Formarea ţesutului osos începe devreme, în cursul perioadei embrionare, în cea de-a opta săptămînă de viaţă intrauterină, se continuă pe întreaga etapă de dezvoltare fetală şi după naştere. În procesul de osteogeneză, au un rol important osteoblastele şi osteoclastele, celule ce se diferenţiază din celulele mezenchimale sau din fibroblaste în momentul în care începe depunerea de matrice preosoasă. Celulele devin deosebit de active, în vederea sintetizării componentelor de bază ale substanţei fundamentale preosoase, fibrilele de colagen şi mucopolizaharidele. Pe măsură ce se formează, aceşti produşi trec în afara celulei şi se depun în jurul ei şi a numeroaselor prelungiri pe care le emite. În matricea nou formată, se vor depune sărurile de calciu sub formă de cristale de hidroxiapatită. Acestea se dispun sub formă de spiculi radiari în cîteva puncte de osificare, de la care confluează pe măsură ce procesul osteogenetic progresează. Pe măsură ce osul se formează, osteoclastele intervin prin procese de resorbţie locală, la aranjarea definitivă a structurii osului nou format, pH-ul local scade, pentru a permite mobilizarea sărurilor de calciu. O parte din aceasta apar sub formă de formaţiuni rotunde, electrono-dense în interiorul citoplasmei osteoclastului. În osul nou format, nutriţia este asigurată de numeroase capilare ce înaintează în substanţa osoasă, în spaţiile libere ale viitoarelor cavităţi medulare.

Osteogeneza se poate efectua pe un model membranos, fiind denumită *osteogeneza intramembranoasă*, sau pe un model cartilaginos, luînd denumirea de *osteogeneză intracartilaginoasă sau encondrală.* Procesul de formare a osului

Scanned with OKEN Scanner

este asemănător pentru amîndouă tipurile menționate și se datorește acțiunii comune a osteoblastelor și osteoclastelor.

Osteogeneza intramembranoasă sau desmală este întîlnită în special în oasele craniului și unele oase ale feței. De aceea acestea poartă denumirea de oase de membrană. Formarea lor începe în mezenchimul embrionar, într-o structură conjunctivă densă. În această membrană apar puncte sau centre de osificare, ce se măresc treptat pînă la confluare. Aceste centre sînt bine vascularizate și conțin celule conjunctive ce se înmulțesc repede și se diferențiază în osteoblaste, care se așază de cele mai multe ori în cerc în jurul centrelor de osificare. Ele elaborează materialul preosos pe care îl depun în jurul lor. În punctele de osificare, pe matricea preosoasă formată apar spiculi alungiți de săruri de calciu așezați radiar ce cresc mereu ca număr. Osificarea intramembranoasă începe în luna a doua fetală, progresează în toată membrana, fără însă ca procesul de osteogeneză să fie complet încheiat la naștere. Părțile periferice ale oaselor, craniului rămase neosificate realizează între ele prin suturi conjunctive un spațiu larg acoperit de membrana conjunctivă. Acest spațiu a fost denumit *fontanelă*. Nounăscutul are 6 fontanele, dintre care cea mai mare este fontanela anterioară. Procesul de osificare continuînd, acestea se vor închide în primii ani după naștere. Osul de membrană nou format este la început un os de tip spongios, rămânînd ca atare încă cîteva timp după naștere. În jurul lui se va dezvolta o foiță periostică foarte activă care va construi, de o parte și de alta a țesutului spongios, cele două lamele de țesut osos compact (tăbliile osoase) care închid la mijloc osul spongios (diploe).

Osteogeneza intracartilaginoasă — encondrală. Pe model cartilaginos hialin se dezvoltă oasele scheletului și o parte din oasele feței. Cartilajul hialin se modifică puternic, transformîndu-se treptat în țesut osos. Se pot recunoaște mai multe zone la nivelul cartilajului ce se pregătesc să devină țesut osos:

1. *Zona cartilajului hialin normal* sau zona de rezervă este bine dezvoltată la începutul osteogenezei și se reduce progresiv pe măsură ce osul se formează.

2. *Zona proliferativă.* În această zonă, cartilajul este deosebit de activ, celulele se înmulțesc prin mitoze repetate. Noile celule rezultate, se așază una sub cealaltă în același grup izogen; grupele izogene sînt așezate paralel între ele, dînd acestei zone aspectul de cartilaj hialin seriat (fig. 111).

3. *Zona de maturare.* Celulele cartilaginoase se modifică, se maturează, dispărînd orice mitoză la nivelul lor. În condrocite apare glicogen și se evidențiază o bogată activitate a fosfatazei alcaline. În matricea cartilaginoasă, fibrilele colagene sînt fine de 75—200 Å, au direcții diferite, realizînd un aspect de rețea cu ochiuri neregulate. Substanța fundamentală este de densitate electronică foarte scăzută. În matrice apar unele formațiuni rotunde sau ovale, de aspect amorf, omogen, mai dense la fluxul de electroni, cu un diametru de 500—2 500 Å; ele sînt puternic PAS-pozitive și sînt plasate printre fibrilele colagene, în apropierea celulelor cartilaginoase. Aceste formațiuni devin mult mai numeroase către zona următoare a cartilajului (fig. 112).

4. *Zona cartilajului hipertrofic și calcificat.* Celulele cartilaginoase încep să se hipertrofieze, fiind pe cale de dispariție către partea profundă a zonei

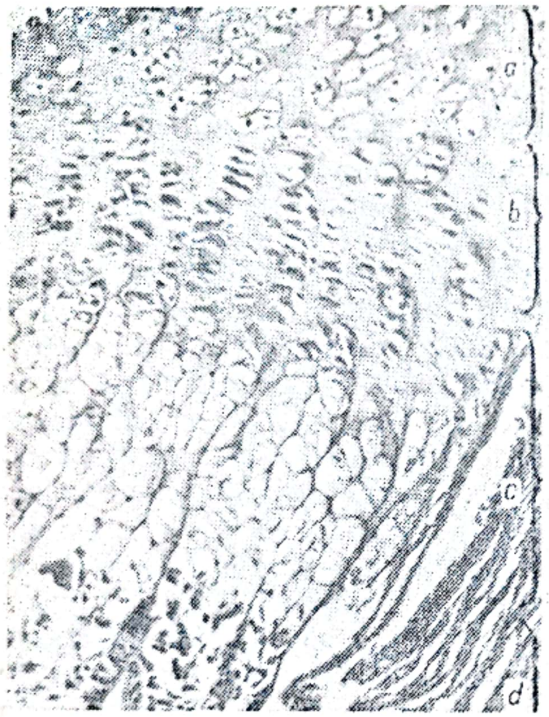


Fig. 111. Osificare encondrală, ob. 20:
a — zona cartilaj hialin normal; b — zona cartilaj seriat; c — zona cartilaj hipertrofiat; d — zona de osificare.

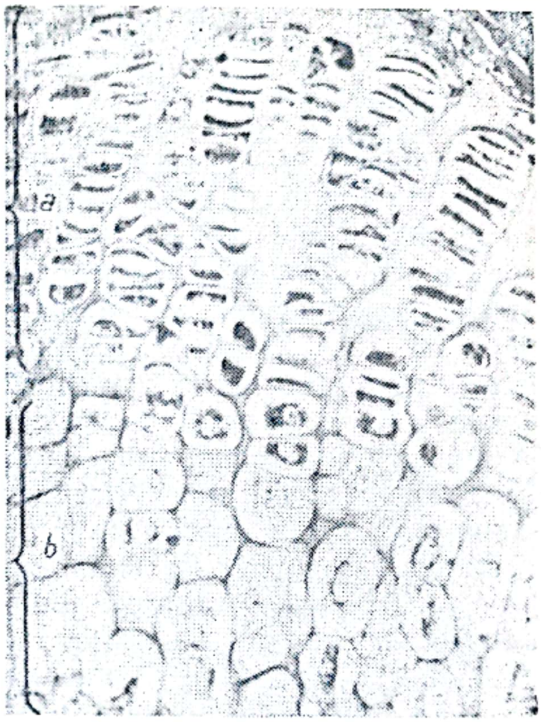


Fig. 112. Osificare encondrală, ob. 40:
a — cartilaj seriat; b — cartilaj hipertrofiat.

respective. Septurile dintre celulele aceleiași grupe izogene se dizolvă și se formează astfel canale înconjurate de o matrice cartilaginoasă, modificată evident prin depuneri accentuate de săruri de calciu. În această zonă pot fi observate aspecte matriceale variate: puncte ce se pregătesc pentru osificare, alături de altele în care depunerea de săruri de calciu este deja foarte avansată. Corpii rotunzi denși ce apar în zona de maturare, cresc numeric mult înspre zona cartilajului degenerat. Pe măsura ce calcificarea înaintează, ei se încarcă cu cristele aciculare de hidroxiapatită. Cristalele devin tot mai numeroase, depășesc nodulii în care apar și tind să unească într-o masă comună numeroșii corpi denși existenți.

5. *Zona cartilajului degenerat.* Celulele au dispărut sau sînt pe cale de degenerare, iar matricea dintre ele este în cea mai mare parte calcificată. Cristalele de 18—32 Å grosime, lungi de 500—1 600 Å, înconjură fibrele de colagen, fiind prezente în toată matricea, existînd foarte mici zone în care încă lipsesc (fig. 113).

În concluzie, se poate spune că osificarea matricei cartilaginoase începe prin formarea unor corpi rotunzi, PAS pozitivi, osmofilici, care constituie *nuclee de depunere a cristalelor de apatită*. Se admite că formarea corpilor are loc în jurul unui nucleu organic de natură proteică (o glicoproteină probabil), dar originea lor este încă discutată. Nu se poate spune încă cu precizie dacă aceștia sînt de origine celulară sau nu. În orice caz, teoria nucleelor de

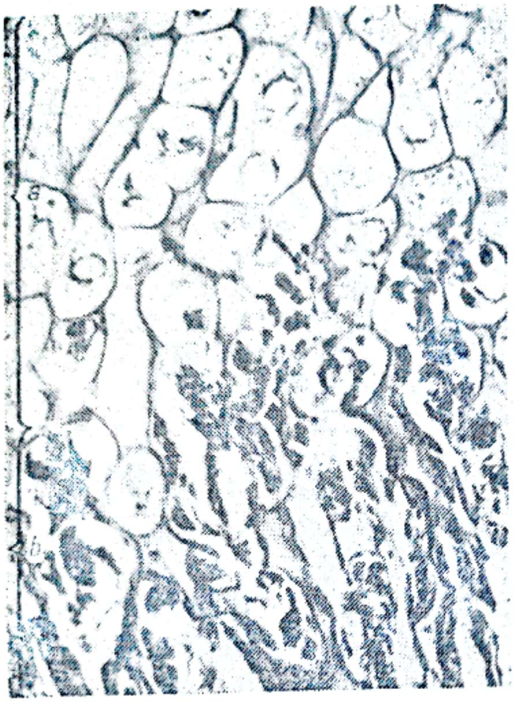


Fig. 113. Osificare encondrală, ob. 40: a — zona cartilaj hipertrofiat; b — zona de osificare.

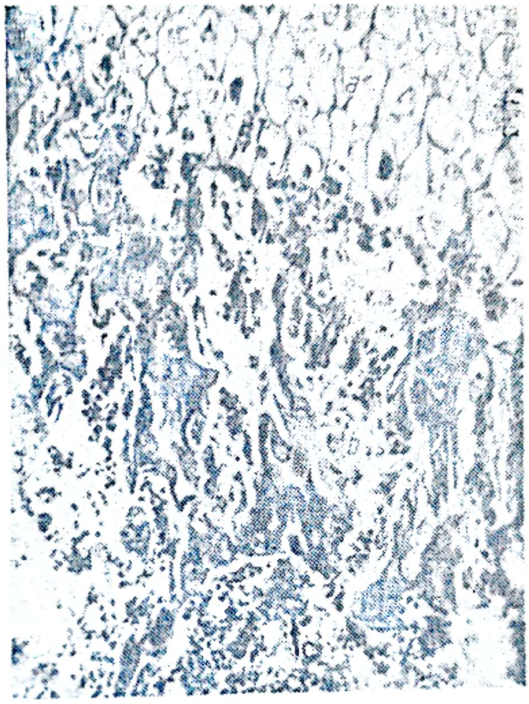


Fig. 114. Osificare encondrală, ob. 40: a — zona cartilaj hipertrofiat; b — zona de osificare; c — nuclei.

start al calcificării cartilajului hialian este astăzi admisă, cu toate punctele obscure pe care le mai prezintă încă, mai ales în legătură cu apariția corpilor PAS pozitivi în matrice.

6. *Zona regresivă* în care încep să sosească vase capilare însoțite de celule conjunctive; acestea din urmă se vor diferenția în osteoblaste. Materialul conjunctivo-vascular pătrunde în canalele rămase libere după dispariția celulelor cartilaginoase (fig. 114).

7. *Zona de osificare*. Osteoblastele așezate în straturi epitelioide, la marginea canalelor în care au pătruns, depun preoseina, substanță ce se va impregna cu săruri de calciu (fig. 115).

8. *Zona osoasă propriu-zisă* este formată din apozițiile de material osos care se formează pe seama osteoblastelor.

9. *Zona resorbtivă* conține numeroase osteoclaste ce vor regenera țesutul osos și îi vor da forma lui definitivă. Osificarea encondrală apare în viața intrauterină încă din cea de-a doua lună fetală, în cartilajul hialin destinat viitoarelor oase ale scheletului sub forma unor *centre primare de osificare* pentru diafizele oaselor lungi. Înainte de naștere apar și *centrele secundare de osificare*, cîte unul pentru fiecare epifiză. Acestea pot apărea însă și în prima copilărie sau chiar în adolescență. Osificarea encondrală este întîlnită în oasele lungi pînă în vîrsta de 20—25 de ani la nivelul cartilajelor de creștere sau de conjugare care sînt situate între diafiză și epifiză. Procesul de osteo-

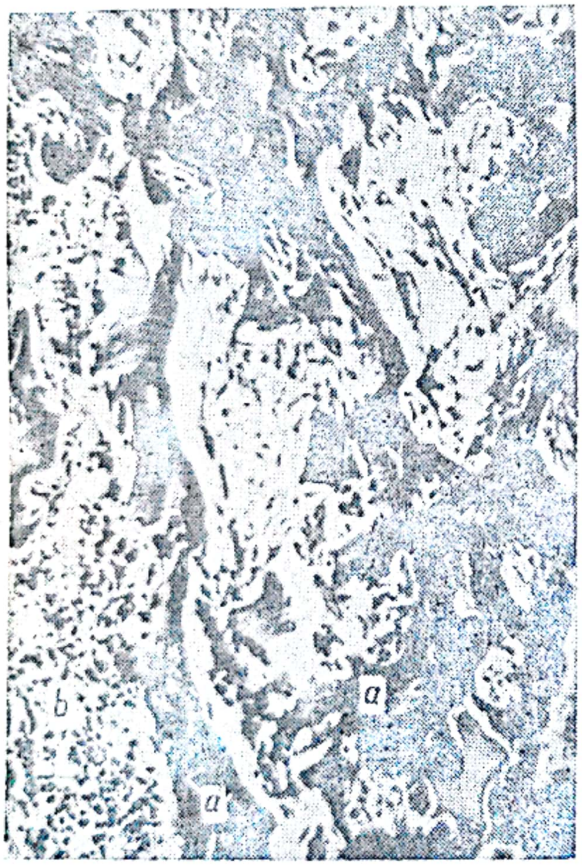


Fig. 115. Osificare encondrală, ob. 40.
Zona de osificare: a — travee osoase; b — nucleii osteoblastelor, celulelor conjunctive şi endoteliale.

geneză de la acest nivel asigură creşterea osului în lungime şi este locul în care zonele de transformare a cartilajului hialin în ţesut osos se pot urmări în toată evoluţia lor, existînd o trecere gradată între zona hialină normală şi celelalte zone modificate. Această zonare este însă mai puţin precisă în centrele primare de osificare ale diafizelor, deoarece la acest nivel transformarea cartilajului hialin în os, se face după o direcţie radiară de la un punct de plecare central. Osul creşte în grosime, prin adăugarea la periferia lui de noi lamele osoase de natură periostică. În perioada de formare a ţesutului osos (fetală) sau în cazuri de fracturi, foiţa de înveliş devine deosebit de activă prin stratul intern celular osteogenic.

FACTORII CARE CONTROLEAZĂ PROCESELE DE OSTEOGENEZĂ

Hormonii: *hormonul somatotrop* din adenohipofiză influenţează creşterea osului. Excesul hormonal înainte de încheierea creşterii în lungime a oaselor poate duce la o creştere accentuată a acestora, în cadrul maladiei care poartă denumirea de gigantism, iar lipsa sau insuficienta producere de hormon somatotrop împiedică dezvoltarea şi creşterea osului dînd sindromul de nanism. *Hormonul paratiroidian* reglează circulaţia calciului în ţesutul osos, controlînd eliberarea lui în sînge sau depozitarea lui în oase. Excesul de hormon este întovărăşit de o mobilizare crescută a calciului din oase. *Hormonii gonadotropi* masculin şi feminin, modifică apariţia centrelor de osificare, influenţînd astfel gradul de maturare a osului. *Hormonul tiroidian*, are o in-

fluență nespecifică asupra creșterii osoase, exercitat probabil prin controlul pe care îl efectuează asupra metabolismului general al organismului.

Vitamine. *Vitamina D_2*. Lipsa ei în organism împiedică osificarea cartilajului diafizoepifizar, ceea ce face ca acesta să se oprească în stadiul de cartilaj hipertrofic și să nu se mai poată transforma în țesut osos. Acest fapt îl întîlnim în boala numită rahitism.

Vitamina A intervine mai ales în faza de activitate maximă a osteoclastelor. Lipsa ei poate împiedica procesul resorbtiv care să ducă la remanierea definitivă a osului.

Vitamina C intervine indirect în procesul de osteogeneză. Ea este necesară sintezei tropocolagenului și mucopolizaharidelor substanței presoase. Avitaminoza C împiedică fibroblastele să formeze în condiții bune matricea preosoasă.

Remanieri osoase. Osul nou format este supus unor modelări continui pentru a primi forma definită. Osul embrionar este întotdeauna un os spongios. Către sfîrșitul vieții fetale apar sistemele Hawersiene, iar după naștere apare și osul periostal. Primele sisteme Hawersiene se numesc sisteme primitive au o viață tranzitorie și vor fi înlocuite în cea mai mare parte de noi sisteme Hawersiene. Din sistemele primitive în procesul de reorganizare internă rămîn fragmente ce vor alcătui în osul adult sistemele osoase interstițiale. În tot timpul dezvoltării osoase, se distrug sistemele Hawersiene și se formează altele noi. După vîrsta de 20—25 de ani, reorganizările interne nu încetează, fiind însă deosebit de reduse. În caz de fractură osoasă, procesul de osteogeneză reapare deosebit de activ în vederea formării unui calus osos care să consolideze cele două capete osoase. La locul de fractură, datorită hemoragiei imediate, se va forma un cheag sanguin în care vor prolifera fibroblastele, se vor forma noi capilare, organizîndu-se într-o primă etapă un țesut de granulație între capetele osoase. În același timp se diferențiază osteoblastele în stratul intern al periostului, care vor forma primul strat osos spongios de legătură a celor două fragmente osoase. Cînd acestea a cuprins tot spațiul dintre capetele osoase, începe să se remanieze și să se transforme în țesut osos compact definitiv.

Scanned with OKEN Scanner

SÎNGELE

GENERALITĂŢI

Sîngele şi derivaţii săi, împreună cu lichidul interstiţial şi limfa, alcătuiesc mediul intern al organismului.

Sîngele este un fluid cu compoziţie şi structură complexă, adaptată funcţiilor de respiraţie, nutriţie, excreţie şi apărare a organismului. În constituţia sîngelui intră o masă lichidă, aparent omogenă, uşor vîscoasă, slab alcalină şi cu o compoziţie chimică particulară — *plasma sanguină* — în care se găsesc în suspensie următoarele elemente celulare: *leucocitele* sau globulele albe cu rol în apărarea organismului; *eritrocitele* (globulele roşii, hematiile), care conţin hemoglobină, pigmentul respirator, care dă sîngelui culoarea roşie caracteristică, şi *plachetele sanguine* (trombocite), care participă la procesul de coagulare a sîngelui. Totalitatea acestor celule reprezintă elementele figurate ale sîngelui.

Sîngele circulă în conducte închise, mult ramificate şi de calibru diferit, al căror ansamblu constituie sistemul vascular sanguin. La nivelul capilarelor arteriale, vase cu peretele cel mai subţire, unde presiunea sîngelui depăşeşte presiunea coloid-osmotică a plasmei, prin endoteliul vascular şi membrana sa bazală, transudă un lichid cu o compoziţie chimică asemănătoare cu a plasmei sanguine — *lichidul interstiţial*. Acest ultrafiltrat trece în substanţa fundamentală a ţesutului conjunctiv, scaldă celulele tisulare cărora le furnizează substanţele necesare metabolismului şi funcţiilor lor diferenţiate şi apoi transportă de la acestea la sînge produşii lor de catabolism. Lichidul interstiţial reintră în sînge prin capilarele venoase la nivelul cărora presiunea coloid-osmotică a plasmei este superioară presiunii sanguine de filtrare.

O parte din lichidul interstiţial ajunge însă în sîngele venos şi pe calea sistemului vascular limfatic, constituind *limfa*.

Scanned with OKEN Scanner

Lichidul interstiţial între sînge şi celule reprezintă pentru acestea din urmă mediul lor extern, iar pentru organism o parte importantă a mediului său intern. Apariţia mediului intern — a sîngelui — a fost determinată de constituirea organismelor pluricelulare şi s-a diferenţiat treptat în raport cu gradul de complexitate structurală şi activitate metabolică a acestora. Astfel, la metazoarele cu cea mai simplă organizare, ca spongierii şi celenteratele inferioare, constituite din ectoderm, endoderm şi mezoglee, ale căror celule endodermice au pierdut legătura cu mediul extern, a apărut un mediu intermediar — *hidrolimfa* — corespunzător exigenţelor lor metabolice; aceasta prezintă o compoziţie apropiată de aceea a mediului extern, fiind bogată în apă şi săruri minerale, săracă în substanţe organice şi lipsită de elemente celulare. Hidrolimfa circulă printr-un sistem de lacune format de prelungirile celulelor care constituie mezoglee, dispusă între ecto- şi endoterm.

La celomate, la organisme evoluate apare un mediu intern mai diferenţiat — hemolimfa — în a cărei compoziţie intră, pe lîngă substanţele anorganice abundente, substanţe organice şi celule cu mişcări ameboidale cu rol în apărarea organismului. Hemolimfa poate să conţină în soluţie un pigment respirator — un cromoproteid — hemocianina, care conferă lichidului culoarea albastră, sau hemoglobina, care îl colorează în roşu.

Pe o treaptă mai înaintată a filogeniei, la unii viermi, mediul intern circulă într-un sistem de conducte parţial închise.

Sîngele, mediul intern cel mai diferenţiat, apare la vertebrate, deosebindu-se de hemolimfă prin compoziţia sa chimică mai complexă, prin îmbogăţirea în elemente celulare şi prin legătura labilă a hemoglobinei de globulele roşii.

Caracteristici generale. Sîngele este un fluid vîscos format dintr-un mediu coloidal — *plasma* — şi dintr-un mare număr de celule în suspensie care dau sîngelui un aspect opac. Culoarea lui roşie se datoreşte hemoglobinei din eritrocite.

Masa sanguină a adulţilor sănătoşi reprezintă 6—8% din greutatea corpului; există însă variaţii legate de sex (la bărbaţi este de 79 ml/kgc, iar la femei de 65 ml/kgc) şi variaţii individuale. Volumul sîngelui total se apreciază prin determinarea volumului plasmei şi a volumului eritrocitelor, acestea fiind elementele figurate cele mai numeroase. Raportul plasmă/celule este determinat prin *hematocrit* şi este de 55/45 celule sanguine.

Compoziţia sîngelui. Compoziţia chimică a sîngelui este foarte complexă. Populaţia moleculară a plasmei diferă de aceea a elementelor figurate şi chiar între acestea există diferenţe de structură chimică.

În compoziţia sîngelui intră o cantitate mare de apă în care sînt dizolvate substanţele minerale şi disociate în electroliţi şi ioni. Substanţele organice sînt abundente; cele mai importante din punct de vedere funcţional şi cantitativ sînt proteinele, din totalul cărora hemoglobina reprezintă 2/3. Se găsesc enzime numeroase, glicoproteine, lipoproteine şi corpi imuni (anticorpi), acizi graşi, colesterol, glucoză, hormoni, vitamine şi deşeuri ale metabolismului care vor fi eliminate din organism.

Constituenţii sîngelui variază cantitativ în anumite limite, depinzînd de balanţa dintre aportul şi pierderea de substanţe care se modifică continuu în

Scanned with OKEN Scanner

condiţii fiziologice normale. De exemplu, apa creşte în sînge cînd este ingerată în cantităţi mari, în timp ce concentraţia altor constituenţi scade proporţional. Cu toate variaţiile care survin, structura chimică a sîngelui este foarte constantă, aceste variaţii putînd fi corectate în timp scurt, datorită unor mecanisme foarte complexe care reglează funcţiile organismului. Această constantă a mediului intern este denumită „hemostază" (C a n o n) sau „izostructură" (H e i l m e y e r).

Compoziţia sîngelui variază în condiţii patologice: de exemplu, glucoza e crescută în diabetul zaharat, ureea în afecţiuni renale, iar hemoglobina e scăzută în anemii.

Cunoaşterea variaţiilor calitative şi cantitative este de mare importanţă în medicină pentru diagnostic şi aprecierea eficienţei tratamentului.

Sîngele recoltat din venă într-o eprubetă ce conţine un anticoagulant, după cîteva ore se va separa în două porţiuni: una lichidă superficială — *plasmă sanguină* — şi o porţiune inferioară solidă formată din elementele figurate ale sîngelui.

În absenţa anticoagulantului, sîngele se va separa, de asemenea, după cîteva ore, într-o porţiune solidă — *cheagul sanguin* — format din filamente de fibrină în reţea în care sînt cuprinse elementele figurate şi o porţiune superficială lichidă — *serul sanguin*. Diferenţa dintre plasmă şi ser constă în absenţa din ser a factorilor coagulării şi a fibrinogenului.

PLASMA SANGUINĂ

Plasma conţine 90% apă totală liberă şi 10% reziduuri uscate. Greutatea specifică a plasmei de 1,027 este în funcţie de concentraţia în proteine. Reziduurile uscate sînt formate din substanţe organice 9%, dintre care azotate 8%, şi altele neazotate 1%, şi anorganice 1%. Substanţele organice azotate se împart la rîndul lor în proteine (8%) şi neproteice (35 mg%).

Proteinele plasmatice reprezintă aproximativ 4% din sîngele total şi 80% din reziduul uscat al plasmei. Aprecierea globală a proteinelor plasmatice prin metode fizico-chimice (reacţia biuretului, indicele de refracţie) ne permite să ne dăm seama de proporţia diferitelor fracţiuni proteice din plasma sanguină. Metodele de cercetare a proteinelor plasmatice (metoda precipitării cu săruri ca sulfat de magneziu sau sulfat de amoniu) se cunosc încă de la sfîrşitul secolului tercut. Pe această cale, H a m a r s t e n (1873) separă din plasma sanguină trei fracţiuni proteice: serumalbumine (4,5%), serumglobuline (3%) şi fibrinogen (0,5%). Proporţia dintre cele trei fracţiuni a proteinelor totale din plasmă — albumină, globulină şi fibrinogen — în condiţii fiziologice rămîne constantă în cadrul aceleiaşi specii, dar variază de la o specie la alta.

Prin metoda *ultracentrifugării* pusă la punct de S v e d b e r g, proteinele plasmatice se pot separa în funcţie de greutatea lor moleculară.

Astfel, prin această metodă s-a stabilit că serumalbuminele constituie o fracţiune omogenă, în timp ce serumglobulinele pot fi separate în globulină alfa-, beta- şi gama-; fibrinogenul se situează între beta- şi gamaglobuline.

Scanned with OKEN Scanner

Metoda curent folosită astăzi în separarea proteinelor plasmatice (electroforeza) se bazează pe proprietatea pe care o au diferitele fracţiuni proteice de a migra într-un cîmp electric şi în anumite condiţii de mediu invers proporţional cu greutatea lor moleculară. Preconizată încă de T i s e l i u s, metoda electroforezei demonstrează eterogenitatea proteinelor plasmatice, dar în special a globulinelor (s-au separat globulinele alfa$_1$, alfa$_2$, beta şi gama).

PROTEINE PLASMATICE

Structură. Dintre acestea, *albuminele* care se găsesc în concentraţia cea mai mare (55% din totalitatea proteinelor) prezintă o formă elipsoidală, cu diametrul de 38 Å şi cu o lungime de 150 Å, o greutate moleculară de 70 000. Datorită caracterului puternic hidrofil (sarcini electrice libere la suprafaţa lor), dimensiunilor mici şi concentraţiei mari în plasmă, albuminele determină 80% din presiunea coloidosmotică a sîngelui. Deoarece sinteza albuminelor are loc la nivelul ficatului, afecţiuni hepatice de tipul cirozei sau în nefrite, nefroze, albuminele sînt scăzute. Se presupune că celulele Kupffer sînt în mod deosebit interesante în această elaborare. Un aport insuficient alimentar de proteine (în inaniţie) duce la scăderea albuminelor; de asemenea hemoragiile acute sau arsurile duc la pierderea fracţiunilor plasmatice şi la scăderea albuminelor.

Globulinele plasmatice reprezintă o fracţiune eterogenă (alfaglobuline 13%, betaglobuline 14% şi gamaglobuline 11%) de formă alungită, cu un diametru transversal asemănător fracţiunii albuminice şi cu diametrul longitudinal mai mare; au o greutate moleculară de circa 150 000—400 000. *Alfa$_1$-globulina* este implicată în transportul vitaminei B_{12}, a lipidelor, a glucidelor şi a hormonului tiroidian. Hipertensinogenul, eritropoetina sînt alfa$_1$-globuline. De *alfa$_2$-globuline* este legat transportul glucidelor şi al corpului (deşi toate fracţiunile proteice conţin glucide). Transferina sau siderofilina, plasminogenul şi plasmina aparţin beta$_1$-globulinelor; s-a apreciat că cel puţin 80% din conţinutul lipidic al sîngelui este transportat de beta$_2$-globuline. Anticorpii sînt de natură *gamaglobulinică*. Se înţelege de ce fracţiunea globulinică a serului tinde să crească în timpul proceselor de imunizare. Deşi originea serumglobulinelor nu a fost complet stabilită, experienţele cu ioni radioactivi demonstrează că ficatul furnizează aproximativ 80% din globulinele plasmei, deşi probabil cea mai mare parte, dacă nu în totalitate, provine din limfocite.

Fibrinogenul este o proteină plasmatică, fibroasă, cu greutate moleculară mare, de peste 400 000. Migrează electroforetic între beta- şi gamaglobuline. La microscopul electronic se constată că fibrinogenul este format din trei sfere legate între ele printr-un fir proteic subţire. Ansamblul se răsuceşte în jurul axului mare, dînd moleculei o formă de elipsoid. Este sintetizat de celula hepatică (ribozomi) şi are o concentraţie normală în sînge de 300—400 mg%. Dintre proteinele plasmei este molecula cea mai puţin stabilă şi prezintă tendinţă marcată la polimerizare formînd cheaguri de fibrină în care

fibrinogenul asigură hemostaza fiziologică. Mulţi autori consideră că fibrinogenul căptuşeşte endoteliul vascular, conferind în acest fel rezistenţă peretelui vascular.

Funcţiile proteinelor plasmatice. Proteinele plasmatice îndeplinesc în organism funcţii multiple şi variate:

1. Toate fracţiunile proteinelor plasmatice intervin în *menţinerea presiunii osmotice a sîngelui,* iar presiunea fiecărei fracţiuni este direct proporţională cu concentraţia proteinelor din plasmă şi invers proporţională cu mărimea moleculelor lor. În adevăr, aşa cum s-a mai menţionat, peste 80% din presiunea coloidosmotică este exercitată de albumine care aduc acestei funcţii o contribuţie maximă. Implicit, ele reglează volumul sanguin şi tensiunea arterială.

2. *Rolul de transportor* al proteinelor plasmatice este legat de proprietatea acestora de a forma combinaţii labile cu substanţe organice, lipide (alfaglobulinele vehiculează aproximativ 1/3 din lipidele plasmatice), glucide, vitamine (vitamina A şi vitamina E), hormoni steroizi şi o serie de ioni universali de tipul Cu^{++}, Fe^{++}, Ca^{++}.

3. Proteinele plasmatice intervin în menţinerea *stabilităţii sîngelui.* Modificarea raportului normal albumine/globuline influenţează globulele roşii în tendinţa lor de a se alipi una de alta.

4. Proteinele plasmatice sînt o rezervă de substanţe proteice ale organismului şi în acest fel ele au o *funcţie nutritivă.*

5. Viscozitatea sîngelui este determinată în cea mai mare parte de proteinele plasmaitice. Viscozitatea poate fi modificată în funcţie de conţinutul proteinelor din plasmă.

6.Proteinele plasmatice, prin caracterul lor amfoter, participă la reglarea şi menţinerea echilibrului acidobazic al sîngelui.

7. Unele proteine ale plasmei sanguine au *rol de enzime.* Dintre acestea se pot aminti $alfa_2$-globulina, care conţine cupru (ceruloplasmina) şi care are rol de monoaminoxidază. Şi o parte din factorii coagulării sîngelui de tip enzimă se găsec în plasma sanguină.

8. Întrucît anticorpii sînt legaţi de prezenţa globulinelor, se poate presupune că toate proteinele plasmatice joacă un rol important în procesele de imunologie.

Substanţele azotate neproteice — ureea (20—40 mg%), acid uric 3—6mg%), creatina (1—1,5mg%), creatinina (1—2 mg%), bilirubina, indoxilul sanguin aminoacizii şi polipeptidele constituie alţi constituenţi ai plasmei.

Substanţele organice neazotate din plasma sanguină sînt formate din lipide (0,5 g%), glucide (80—120 mg%), cu rol nutritiv, sau sînt reprezentate de produşi ai metabolismului intermediar (acid lactic, acid citric, acid piruvic, acid oxalic, acid fumaric), precum şi de colesterol (150—230 mg%), din care cea mai mare parte se află sub formă esterificată.

Substanţele anorganice din plasmă sînt reprezentate de apă şi minerale în stare de electroliţi sau ioni (1%). Trebuie notat că plasma este relativ bogată

Scanned with OKEN Scanner

în săruri minerale de tipul sodiului (325 mg%) şi calciului (9—12 mg%), dar săracă în potasiu (20 mg%) şi magneziu (2,7 mg%), situaţie care este exact inversă în celule. Sodiul este ionul plasmei, tot aşa cum potasiul este ionul globulei roşii.

ELEMENTELE FIGURATE ALE SÎNGELUI

Elemente figurate ale sîngelui alcătuiesc grupul celulelor circulante mature formate din eritrocite, leucocite şi plachetele sanguine.

METODE DE STUDIU

Dacă privim la microscop o picătură de sînge recoltat din pulpa degetului sau lobul urechii, suspendată între lamă şi lamelă, distingem şi diferenţiem elementele figurate vii: eritrocitele după culoarea verzuie-galbenă dată de prezenţa hemoglobinei, forma discoidală şi de halteră, numărul lor foarte mare şi dispoziţia izolată sau în rulouri (fişicuri), leucocitele după nucleul refringent, iar plachetele sanguine după dimensiunile lor mici şi tendinţa la aglutinare. Folosind în aceleaşi condiţii coloranţii vitali netoxici ca albastru de metilen, observăm cu uşurinţă leucocitele după nucleul colorat în albastru; roşul neutru ne va da indicaţii asupra reacţiei acestor celule, iar verdele Janus B. va evidenţia mitocondriile. Culturile pe medii naturale sau sintetice care permit prin repicaje menţinerea în viaţă a celulelor un timp mai îndelungat servesc studiului dinamicii celulare la microscopul cu contrast de fază, prin microcinematografie.

Compoziţia chimică şi activitatea metabolică cu variaţiile ei se cercetează prin metode citochimice şi citoenzimatice, cu ajutorul izotopilor radioactivi, fluorescenţi naturali şi provocaţi ş.a.m.d.

Studiul morfologiei detaliate a elementelor figurate se efectuează pe *frotiu* (un strat de sînge întins subţire şi uniform, pe o lamă de sticlă cu ajutorul altei lame cu margine şlefuită), fixat şi colorat cu metoda May Grünwald-Giemsa, amestec colorant de eozinat de albastru de metilen şi Azur II, în alcoolul metilic. Examenul la microscopul optic se face cu obiectivul cu imersie.

Analiza cantitativă (numărul eritrocitelor, leucocitelor şi plachetelor sanguine) se efectuează cu ajutorul unor pipete gradate speciale în care se recoltează şi se diluează sîngele cu lichide conservatoare, numărătoarea făcîndu-se în camere de numărat — *hemocitometre* — raportîndu-se numărul lor la mmc. Metoda cea mai precisă este *hematocritul*. Această metodă constă în centrifugarea sîngelui într-un tub gradat şi determinarea procentajului elementelor figurate din sîngele total.

Aprecierea calitativă a tuturor elementelor celulare şi acelulare cît şi procentuarea şi raportul dintre diferitele leucocite — *leucograma* sau *numărătoarea diferenţială* — se face pe frotiu colorat cu metoda May Grünwald-Giemsa.

Scanned with OKEN Scanner

Aceste metode intră în domeniul hematologiei clinice, constituind baza diagnosticului bolilor sistemului hematopoetic care cuprinde ţesutul limfoid, ţesutul mieloid şi reticulo-endotelial.

Rezultatele acestor metode şi al altor investigaţii de laborator folosite în hematologie au o importanţă fundamentală pentru fiecare medic.

MORFOLOGIA, STRUCTURA ŞI FUNCŢIILE ELEMENTELOR FIGURATE

Eritrocitele (globulele roşii, hematiile) omului şi ale mamiferelor sînt elemente acelulare cu origine celulară, cu o structură diferenţiată, adaptată transportului de oxigen de la plămîn la toate celulele organismului, prin pierderea nucleului în timpul maturaţiei în ţesutul mieloid, concomitent cu dispoziţia reticulului endoplasmatic, mitocondriile, aparatului Golgi şi centriolilor şi încărcarea cu hemoglobină a citoplasmei modificată astfel structural.

În frotiul colorat cu metoda Giemsa, eritrocitele apar roşii-cărămizii, datorită afinităţii hemoglobinei pentru colorantul acid, eozina. Pe frotiurile de sînge necolorate, hematiile sînt colorate în galben-portocaliu, culoare determinată de prezenţa hemoglobinei. Examinate la microscopul cu contrast de fază, eritrocitele apar întunecate, refringente, flexibile şi foarte elastice. Cu ajutorul microscopiei electronice s-au obţinut informaţii asupra ultrastructurii hematiei care apare cu suprafaţă neregulată datorită existenţei a numeroase cratere de dimensiuni diferite. Suprafaţa unui eritrocit normal este de aproximativ 140 microni.[2]

Forma eritrocitului (fig. 116) este aceea de disc biconcav, cu o zonă centrală mai subţire decît periferia, forma care facilitează saturarea sa cu oxigen, oferind în acelaşi timp şi o suprafaţă mai mare schimburilor cu mediul ambiant, plasma sanguină.

Fig. 116. Hematii: forme şi variaţiuni în forma hematiilor:
a — disc biconcav; b — ovalocite; c — drepanocite; d — poikilocitoză.

Schimbări în compoziţia mediului ambiant şi a echilibrului osmotic duc la apariţia de forme foarte variate, caracteristice unor stări patologice (anemii), dar care pot fi observate şi în mod normal, într-o proporţie redusă, datorită unei fragilităţi a elementelor îmbătrînite a căror ultrastructură a fost alterată, sau datorite unei tehnici defectuoase de executare a frotiului, artefacte care conduc la interpretări eronate. Există şi variaţii de formă legate de modificări genice ale structurii hemoglobinei, de mutaţii ale unor gene structurale. Aceste forme sînt permanente şi ereditare.

Eritrocitele în formă de clopot, pară, rachetă, spinoase sau în semilună pot fi artefacte, dar ele sînt caracteristice anemiilor ca şi ovocitele sau eliptocitele de formă ovalară, sferocitele cu forme de bilă, drepanocitele în formă de secera şi acantrocitele cu suprafaţa spinoasă.

Sferocitele, drepanocitele şi acantrocitele sînt forme ereditare determinate de mutaţii gentice.

Eritrocitele îşi schimbă forma, se alungesc micşorîndu-şi diametrul cînd străbat capilarele sanguine, datorită plasticităţii şi elasticităţii membranei lor. În sîngele circulant se observă mişcarea lor imprimată de scurgerea plasmei. Antrenate astfel, de plasmă, ele manifestă tendinţa de aderare între ele formînd rulouri (fişicuri), fenomen datorit tensiunii de suprafaţă.

Polimorfismul eritrocitelor observate pe un frotiu este denumit *poikilocitoză*.

Dimensiunile eritrocitelor. Diametru eritrocitelor vii este de 8,6 microni şi de 7,7 microni după uscare, iar grosimea de 1,9 microni. Variaţii de mărimi neesenţiale se observă în sîngele normal şi în frotiuri defectuoase executate; dimensiunile supra- şi subnormale care depăşesc 8 microni sînt caracteristice anemiilor, în care caz diametrul eritrocitelor depăşeşte 9 microni şi se numesc macrocite. Cele mai mari eritrocite se întîlnesc în anemia pernicioasă şi se numesc *megalocite*. În anemiile prin lipsă de fier (feriprive), eritrocitele sînt mici — *microcite*.

Variaţiile diametrului normal — *anizocitoza* — sînt însoţite şi de o variaţie în culoarea eritrocitelor numită *anizocromie*. Cînd zona centrală a eritrocitului este mai clară decît la normal, ele se numesc *hipocrome*. Trebuie subliniat că în eritrocitele hipocrome, cantitatea totală de hemoglobină este sub normal.

Numărul eritrocitelor pe mmc de sînge şi valoarea hematocritului variază în raport cu sexul, cu vîrsta, cu diferite condiţii fiziologice şi patologice.

La bărbatul adult sănătos, media este de 5 500 000 pe mmc, iar la femeie de 4 500 000 pe mmc. Variaţiile numerice la femeie sînt legate de ciclul menstrual, de gestaţie şi de alăptare.

La noul născut, numărul este crescut peste 6 000 000 pe mmc, numărul scade la 18 luni, apoi este din nou crescut între 2 şi 4 ani, menţinîndu-se în jurul a 4 500 000 pe mmc pînă la pubertate, la valori egale pentru ambele sexe; după aceea, la băieţi se remarcă o creştere a numărului şi a hematocritului pînă la atingerea cifrei bărbatului adult, iar la fete se instalează variaţii în raport cu ciclul menstrual.

Scanned with OKEN Scanner

La vîrstnici, o scădere a numărului eritrocitelor la bărbaţi şi o uşoară creştere la femei fac ca valorile să fie egale pentru ambele sexe.

Variaţii normale individuale apar în timpul exerciţiului, sportului sau la altitudini cînd numărul eritrocitelor este crescut, datorită fie unei schimbări în distribuţia sîngelui, fie unei stimulări a sistemului hemopoetic. Există variaţii şi în funcţie de teritoriile vasculare, emoţii, ş.a.m.d. Această creştere a numărului eritrocitelor pe mmc se numeşte *poliglobulie*.

În condiţii patologice, numărul eritrocitelor este crescut în boala numită *policitemie* şi scăzută în *anemii*.

STRUCTURA ERITROCITULUI

Eritrocitele sînt formate din 60 părţi apă şi 40 părţi solide reprezentate aproape în totalitate de proteine dintre care 90—95% hemoglobină şi 3,8% alte proteine. Procentul de 2,5% din greutatea eritrocitului proaspăt formează *stroma*, din a cărei constituţie fac parte substanţe proteice şi lipidice. Proteinele sînt alcătuite cu precădere dintr-o proteină fibroasă, stromatina, elenină şi sialoproteine. W a y s şi H a n a h a n (1964) descriu eritrocitului un conţinut de $2{,}7\times10^8$ mol. fosfolipide şi $18{,}6\times10^7$ colesterol. În rest, lipidele stromei sînt formate şi din gliceride, acizi graşi liberi, glicolipide şi esteri ai colesterolului. Lipidele constituie împreună cu proteinele un complex fosfolipidoproteic. Acest complex formează o reţea mai densă la periferia eritrocitului şi mai laxă la centru; de această reţea se leagă labil hemoglobina, care este mai concentrată la centru decît la periferie.

Din studiul la microscopul electronic pare justificat să se considere că *membrana* hematiei este în mare similară cu modelul de membrană celulară (fig. 117); ea apare constituită din două straturi lipidice cu un diametru de 30—40 mmc, la care sînt ataşate de o parte şi de alta o reţea de fibre pro-

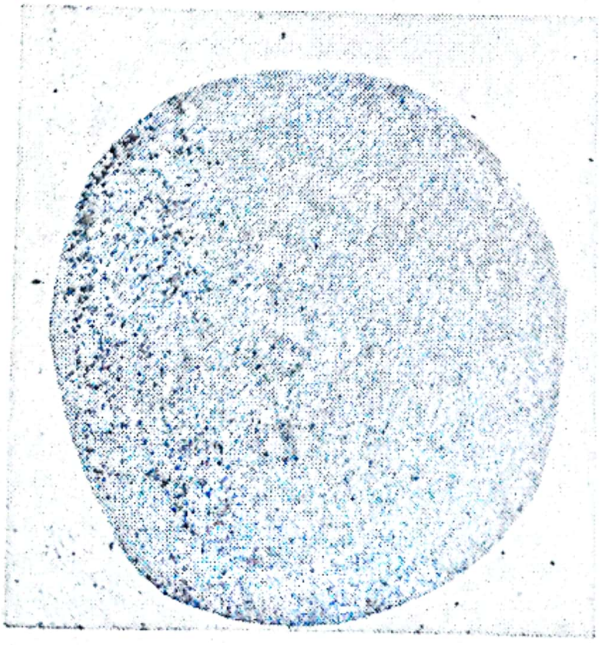


Fig. 117. Membrana hematiei văzută la microscopul electronic (după Robertis).

Scanned with OKEN Scanner

teice groase de 20 mmc. O structură de acest tip ar putea fi compatibilă cu aspectul electronooptic al membranelor trilaminate.

În lumina datelor actuale, componenta lipidică din membrană este formată din *fosfolipide:* acid fosfatidic (sub 1%), fosfatidiletanol amină (2%), fosfatidilcolină (3%), fosfatidil serină (3%), sfingomielină (10—15%); *cerebrozide* (foarte puţine) şi *colesterol* (10%).

Cantitatea de proteine din membrană (60—70%) include şi enzime de transport activ. Membrana este permeabilă pentru apă, molecule mici organice (CO_2, uree), ioni şi are capacitatea în prezenţa ATP de a concentra ionul de K^+ şi de a pompa în afară Na^+. Un component important al eritrocitului este glucoza — sursă de energie necesară menţinerii integrităţii sale morfologice şi funcţionale şi menţinerii hemoglobinei în stare redusă. La nivelul eritrocitului, glucoza este metabolizată după modelul Embden-Meyerhoff. Pentru fiecare moleculă degradată de glucoză se formează două molecule de ATP şi se eliberează o cantitate de energie echivalentă cu 7 000 calorii. Echipamentul enzimatic al eritrocitului este bogat, reprezentat prin glucozo-6-fosfatdehidrogeneza, 6-fosfogluconic-dehidrogeneza, fosfohexozizomeraza-enzime cu rol în glicoliză. Prin scăderea activităţii lor se va produce o cantitate mai mică de energie şi are drept rezultat o distrugere a eritrocitului. Din structura chimică a eritrocitului face parte şi un sistem reductor permanent — reductaza methemoglobinei — care asigură menţinerea hemoglobinei în stare redusă. Există în prezent ideea că eritrocitul conţine şi alte activităţi enzimatice cu rol mai puţin cunoscut. Astfel, anhidraza carbonică, catalaza (împiedică degradarea moleculei de hemoglobină sau acţiunea hidrogenului peroxid), fosforilazele nucleozidelor purinei, colinesteraza, enzime proteolitice şi glutationul formează numeroşi constituenţi ai eritrocitului. Se găsesc de asemenea şi cele mai importante materiale necesare eritropoezei.

Pe membrana celulară se găsesc substanţe speciale, complexe de carbohidraţi cu fosfolipide determinate genetic, care poartă numele de substanţe antigenice A, B, şi O, pe baza cărora se face o clasificare în patru categorii sau grupe sanguine: grupele A, B, AB şi O. Fiecare individ trebuie să facă parte dintr-una din aceste grupe. Cunoaşterea acestei apartenenţe este de o deosebită importanţă în transfuzii. Cel care face parte din grupa A, în prezenţa antigenului B produce anticorpi contra substanţei B, iar cei din grupa B anticorpi contra substanţei A; în aceste cazuri, eritrocitele receptorului vor fi aglutinate. Aparţinătorii grupei AB nu vor dezvolta anticorpi A şi B, şi deci vor putea primi sînge de la cei din aceste două grupe, fiind receptori universali. Indivizii din grupa O nu au nici antigen A, nici B, deci ei pot da sînge la toate tipurile, sînt donatori universali, dar ei nu pot primi sînge decît de la cei din grupa O.

Valoarea funcţională a eritrocitelor este dată de conţinutul lor în hemoglobină. Sîngele conţine aproximativ 15 g hemoglobină la 100 cmc.; eritrocitul conţine o cantitate determinată care constituie valoarea globulară. Această substanţă normală suferă însă variaţii în multe afecţiuni.

În constituţia hemoglobinei intră o proteină — *globina* — legată de un nucleu feruginos colorat — *hemocromogenul* — un compus fier — porfi-

Scanned with OKEN Scanner

rină. Datorită fierului, hemocromogenul fixează labil O_2 devenind oxihemoglobină. Eritrocitele transportă oxihemoglobina de la capilarele pulmonare în sîngele arterial în sîngele venos din marea circulaţie, cedează O_2 şi hemoglobina eritrocitelor se găseşte în stare redusă. Hemoglobina este deci factorul major al respiraţiei; schimburile se fac prin intermediul plasmei, eritrocitele jucînd un rol pasiv.

Molecula de hemoglobină este deci o proteină conjugată din globină şi hem. *Hemul* constituie 4% din molecula de hemoglobină normală şi este un compus format dintr-un *atom de fier şi o protoporfirină.* Mitocondriile constituie locul de sinteză al *protoporfirinei* care se desfăşoară în etape intermediare avînd ca materie de bază glicina (un aminoacid constituent normal al celulei) şi succinil CoA. Fierul este adus prin alimente, traversează endoteliul capilar şi apoi membrana celulară şi pătrunde în eritroblast (unde are loc sinteza de hemoglobină) prin rofeocitoză (proces similar cu pinocitoza) sub formă de fier feric. Rămîne în această stare pînă în momentul înglobării în molecula de hemoglobină unde se găseşte sub formă de fier feros. Molecula de *globină* sintetizată la nivelul ribozomal este formată din două perechi de lanţuri polipeptidice desenate cu litere α şi β. Fiecare lanţ polipeptidic este format dintr-o secvenţă exactă de aminoacizi (19 tipuri de AA), determinate de o secvenţă precisă de baze dintr-o anumită moleculă de ADN. Este interesant de menţionat că fiecare lanţ are în constituţia sa aproximativ 140 de aminoacizi determinînd o moleculă de hmoglobină cu 560 de aminoacizi. Fiecare lanţ polipeptidic este combinat cu un grup hem şi este asamblat într-un mod definit prin legături primare de H^+ la care participă şi legături saline şi forţe Van der Waals. În condiţii normale şi corespunzătoare de desfăşurare a complexului metabolic se va realiza un eritrocit cu o concentraţie medie de hemoglobină de 34%.

Sîngele uman adult conţine două tipuri de hemoglobină, cea majoră, *hemoglobina A*, e formată din două lanţuri α şi două lanţuri β şi constituie 90—95% din hemoglobina totală; hemoglobina A_2 în cantităţi reduse are două lanţuri α şi două lanţuri Δ.

Sîngele fetal conţine o hemoglobină F diferită de hemoglobina A, avînd două lanţuri α şi două lanţuri γ.

S-a constat uneori în sîngele nou născutului prezenţa unei hemoglobine abnormale, Hb Barts (10%), care dispare însă la copilul de trei luni.

În drepanocitoză, boală congenitală, pe lîngă hemoglobina A se găseşte şi o hemoglobină abnormală S, drepanocitoza fiind datorită dezoxigenării acesteia (P e u l i n g, 1949).

Hemoglobina S diferă de hemoglobina A prin susbstituirea acidului glutamic cu valina, este deci o anomalie de sinteză de hemoglobină, care are la bază o anomalie structură a ADN. O altă hemoglobină anormală este hemoglobina C, datorită substituirii acidului glutamic cu lizina.

Hemoliza. Presiunea osmotică a plasmei sanguine ca şi cea din eritrocite este legată de presiunea unei soluţii de 0,9% clorură de sodiu. Această soluţie este *izotonică* şi permite conservarea in vitro a eritrocitelor. Puse într-o

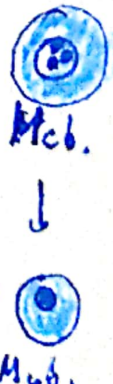
soluţie hipertonică, acestea vor pierde apa şi se vor zbîrci, iar într-o soluţie hipotonică apa va pătrunde prin membrană în eritrocite; acestea se vor umfla şi vor elibera hemoglobină producînd astfel *hemoliza*. Diferite substanţe pătrunse în organism ca solvenţii lipidelor, substanţe care tind să separe proteinele de lipide, unele bacterii, veninul unor şerpi pot provoca hemoliza.

Factorul Rh, substanţă complexă ca şi antigenii sistemului ABO, se găseşte tot la suprafaţa membranei eritrocitelor unor organisme umane care sînt astfel Rh pozitive. Denumirea factorului provine de la maimuţa Rhesus unde a fost descoperit. Transfuzia de sînge de la un donator Rh pozitiv la un receptor Rh negativ, ale cărui globule roşii nu conţin aceşti factori, determină formarea de anticorpi contra globulelor roşii Rh^+. În acest fel, o transfuzie ulterioară de sînge Rh^+ va provoca hemoliza globulelor roşii ale receptorului, ceea ce este deosebit de grav. În serul normal nu se găsesc anticorpi faţă de antigenul Rh. Factorul Rh este ereditar. Copilul a cărui mamă este Rh negativ şi tatăl pozitiv poate fi Rh pozitiv. În acest caz, în timpul gestaţiei, organismul matern va forma anticorpi Rh care, trecînd din sîngele matern prin placentă la făt, vor provoca hemoliza globulelor roşii fetale.

Durata de viaţă a eritrocitelor. Cercetările cu glicină marcată cu N^{15} au demonstrat că eritrocitele trăiesc 125 de zile; zilnic sînt distruse şi înlocuite 0,8% globule roşii. Distrugerea eritrocitelor este un proces continuu şi se petrece îndeosebi în splină şi măduva osoasă, organe hemopoetice. Elementele distruse eliberează hemoglobina. Aceasta prin degradare va elibera fierul care în cea mai mare parte va servi la sinteza de hemoglobină; o parte din hemoglobina distrusă va forma pigmenţii biliari. Eritrocitele distruse sînt înlocuite de elemente noi, formate din măduva osoasă şi eliberate mature în sînge. În acest mod se păstrează numărul lor constant, care variază în anumite limite fiziologice (planşa XII).

Geneza eritrocitelor. Elementele cu hemoglobină sînt cele dîntîi care apar în viaţa embrionară, apariţia lor fiind probabil determinată de nevoia de oxigen a ţesuturilor embrionare în dezvoltare. Formarea acestor elemente începe la embrionul uman între a 14-a şi a 18-a zi (Maximov) în mezenchimul extraembrionar din peretele veziculei viteline. Din proliferarea celulelor mezenchimale iau naştere insulele descrise de Wolf şi Pander, din care se vor diferenţia atît primele elemente ale sîngelui, cît şi endoteliile primelor vase sanguine (fig. 118). Celulele mezenchimale periferice se alungesc şi se transformă în celule endoteliale care căptuşesc un lumen în care celulele mezenchimale din centrul insulelor pierd prelungirile, devin rotunde, cu un nucleu sferic cu cromatina în reţea şi cu mai mulţi nucleoli, înconjurat de o citoplasmă puţină şi intens bazofilă. Aceste celule primitive sînt *hemocitoblaştii*.

Originea plasmei este neelucidată. S-ar părea că ar fi datorită secreţiei celulelor endoteliale. Aceste transformări durează cîteva ore, apoi hemocitoblaştii se divid dînd naştere la o populaţie care în parte va servi ca masă de rezervă celulară, iar alţii se vor diferenţia în celule mai mici, cu citoplasmă bogată, bazofilă, cu nucleul cu cromatină dispusă în reţea şi lipsit de nucleoli:



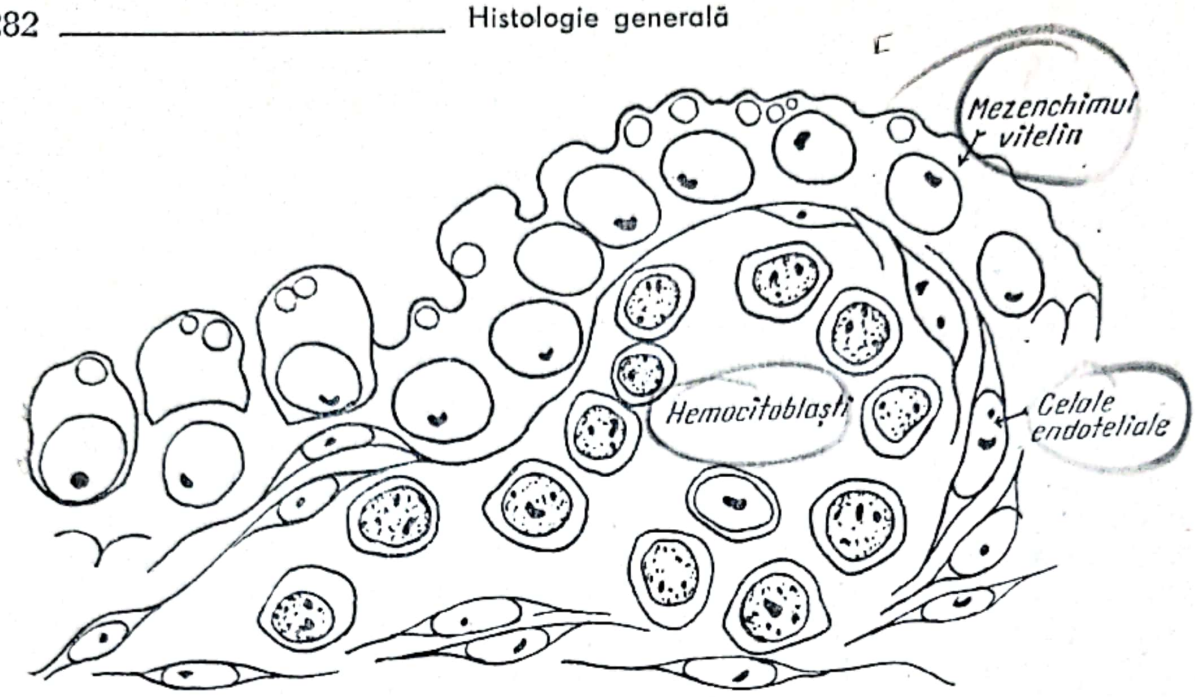


Fig. 118. Mezenchimul extraembrionar în peretele veziculei viteline. Insulele Wolff-Pander.

sînt *megaloblaştii bazofili* care sintetizează treptat hemoglobina, devenind *megaloblaşti policromatofili* cu citoplasmă reprezentînd bazofilie şi acidofilie. Aceste elemente mai mici decît precursorii lor se vor încărca cu hemoglobină, citoplasma devenind net acidofilă, iar nucleul lor va prezenta cromatina în blocuri. Elementul acesta este *megaloblastul acidofil,* element mai mic decît cel policromatofil. În sîngele embrionar din acest stadiu se găsesc hemocitoblaşti, elemente preponderente şi formele lor evolutive, megaloblaşti bazofili, policromatofili. După ziua a 24-a a dezvoltării, o dată cu apariţia circulaţiei embrionare, apar focare de hematopoeză şi în mezenchimul intraembrionar, celulele mezenchimale urmînd aceeaşi evoluţie. Celulele mezenchimale din jurul capilarelor vor forma periteliul vascular. Celulele perivasculare în viaţă postnatală, în anumite condiţii patologice, vor putea da naştere şi ele elementelor sîngelui. Celulele cu hemoglobină se vor matura în număr redus prin pierderea nucleului, devenind *megalocite.* Focarele de hematopoeză caracteristice acestui stadiu numit *stadiu mezoblastic* vor dispărea la naştere (planşa XIV).

În a 6-a săptămînă a dezvoltării embrionare apare mugurele hepatic. Acest mugure epitelial va fi pătruns de mezenchimul din jur, care va deveni astfel un nou factor de hemopoeză. Din celulele mezenchimale se vor forma *hemocitoblaşti* care prin diferenţiere vor genera elementele din seria megaloblastică şi elemente noi, *proeritroblaşti,* ce se vor găsi în tot cursul vieţii, cu formele lor evolutive: eritroblaştii bazofili, eritroblaştii policromatofili şi eritroblaştii acidofili — elemente asemănătoare cu cele din viaţa postnatală, elementele mature — eritrocitele, sînt rare.

Numărul megaloblaştilor diminuează treptat pînă la dispariţia totală în luna a 4-a datorită dezvoltării glandelor gastrice şi a ficatului care asigură for-

marea factorului antianemic. În viaţa postnatală, megaloblaştii nu vor mai apărea în sînge decît în cazurile patologice (anemia gravă biermeriană sau pernicioasă).

Aceşti megaloblaşti nu conţin însă hemoglobină de tip embrionar, ci hemoglobină de tip adult.

Cu apariţia mugurelui splenic (în a 10-a săptămînă), celulele mezenchimale vor forma hemocitoblaşti ce se vor diferenţia în mod predominent în proeritroblaşti şi formele lor evolutive. Activitatea eritropoetică a splinei dispare în luna a 5-a, iar a ficatului continuă pînă către sfîrşitul gestaţiei, coincizînd cu activitatea hemopoetică a măduvei osoase şi a ganglionilor limfatici pînă la luna a 5-a a dezvoltării fetale; de la această dată, funcţia eritropoetică trece treptat în sarcina măduvei osoase care după luna a 8-a devine organul principal de formare a eritrocitelor.

La copil, eritrocitele se formează în măduva roşie din toate oasele, iar la adult în măduva hematogenă din oasele plate, din epifizele oaselor lungi şi din corpul vertebrelor.

La vîrstnic, geneza eritrocitelor are loc tot în măduva osoasă a aceloraşi oase, dar procesul este mai puţin activ, datorită involuţiei *ţesutului mieloid.*

Eritropoeza (planşa XII). Din celulele reticulare, elemente ale reticulului măduvei osoase hematogene, iau naştere prin mobilizarea lor *hemocitoblaştii* care, trecînd prin stadiile de eritroblaşti bazofili, policromatofili, oxifili şi reticulocite, vor deveni eritrocite mature.

Eritroblaştii bazofili. Între hemocitoblaşti şi eritroblaştii bazofili se interpune proeritroblastul. *Proeritroblastul* este celula suşe de origine a seriei eritrocitare. Este o celulă mare de 12—20 microni de formă rotundă sau ovalară. Nucleul cu 1—2 nucleoli ocupă cea mai mare parte din celulă şi are o structură fin cromatiniană. Citoplasma redusă şi intens bazofilă apare la microscopul electronic lipsită de reticul endoplasmatic. În număr crescut se pot observa ribozomi şi mitocondrii. Urmele fine de hemoglobină demonstrează că în acest stadiu începe sinteza de hemoglobină.

Eritroblaştii bazofili sînt celule mai mici, cu nucleu a cărui cromatină e mai densă şi conţine 15—20 de blocuri cromatiniene al căror aspect aminteşte spiţa de roată. Citoplasma este intens bazofilă datorită unui număr considerabil de ribozomi care fac ca eritroblastul bazofil să fie considerat celula cea mai albastră din măduvă. Prezenţa ribozomilor atestă o activitate de secreţie proteică. În adevăr, în eritroblastul bazofil se sintetizează cea mai mare cantitate de globină.

Eritroblaştii policromatofili iau naştere prin diviziunea mitotică a eritroblaştilor bazofili. Concomitent cu proliferarea are loc şi diferenţierea lor în eritroblaşti policromatofili, prin descreşterea cantităţii de ARN şi creşterea conţinutului în hemoglobină care dă acidofilia mai mult sau mai puţin pronunţată în diferitele regiuni ale citoplasmei care vor prezenta fie un amestec de bazofilie şi acidofilie, fie zone net acidofile. Vor exista deci eritroblaşti policromatofili cu diferite grade de maturaţie, în raport cu cantitatea de hemoglobină sintetizată. Mai mici decît eritroblaştii bazofili, ei au nucleul mai intens colorat datorită dispoziţiei regulate a blocurilor de cromatină mai densă.

Eritroblaştii acidofili sau normoblaştii rezultă din diviziunea repetată a eritroblaştilor policromatofili, concomitent cu creşterea concentraţiei de hemoglobină în citoplasma care devine astfel net acidofilă. Celulele mai mici decît predecesorii lor au nucleul mai mic şi mai dens; prin proliferare, ei dau naştere la elemente al căror nucleu este picnotic, de forme variate, care reprezintă grade diferite de dezintegrare. Nucleii picnotici sînt, în majoritatea lor, expulzaţi din celulă şi numai un număr mai mic suferă procesul de cariorexis şi de liză intracitoplasmatică; unele fragmente care nu se lizează constituie corpi degeneraţi, numiţi corpii lui Jolly.

Reticulocitele sînt eritrocite incomplet mature care în mod normal se găsesc în circulaţie în proporţie de 1‰ de eritrocite. Prin coloraţia supravitală cu albastru de cresil se evidenţiază o fină reţea granulară în constituţia căreia intră nucleoproteine şi reticulul endoplasmic; prezenţa reţelei a dat elementului denumirea de reticulocit. Numărul reticulocitelor creşte după hemoragii repetate, cînd măduva hemotogenă este mai solicitată să elibereze în sîngele periferic elemente incomplet mature. Numărul reticulocitelor creşte de asemenea în urma tratamentului administrat bolnavilor cu anemie gravă (pernicioasă), indicînd eficacitatea tratamentului. Reticulocitele prin maturare generează eritrocitele care părăsesc măduva hemopoetică şi trec în circulaţia sanguină. Eritrocitele, elementele mature sînt lipsite de reticul endoplasmic şi ribozomi, mitocondrii, complex Golgi şi centrul celular.

BIOSINTEZA HEMOGLOBINEI. CICLUL FIERULUI

Fierul necesar sintezei hemoglobinei este prezentat prin *feritină*, globulină, care conţine 17—23% fier. Ea este formată dintr-o parte proteică — apoferitina — care leagă fierul trivalent sub formă de hidroxid feric coloidal şi din fosfat de fier. Feritina ajunge la organele hemopoetice după absorbţie prin mucoasa intestinală cît şi ca produs rezultat din digestia eritrocitelor degenerate. Prin cinematografie a fost urmărită digestia ce are loc în interiorul celulei reticulare şi s-a constatat separarea în fragmente a elementului digerat. Această digestie dă naştere la formarea feritinei, fapt constatat la microscopul electronic. La nivelul eritroblastului, microscopia electronică a arătat că în molecula de feritină de formă octoedrică cu latura de 50 Å, fierul constituie 6 mase aşezate la colţuri. De asemenea, citochimia a prezentat şi ea prezenţa feritinei şi a fierului din interiorul ei. Moleculele de feritină formează deseori, împreună cu alte substanţe, o structură neregulată vizibilă la microscopul optic: hemosiderina. Bessis a descris pentru prima oară (1958) la microscopul electronic că în insulele de eritroblaşti (observaţiile la microscopul obişnuit) există cîteva celule reticulare pline cu feritină (de tip dispersat sau ca hemosiderina). Moleculele de feritină se eliberează din celula reticulară şi pătrund prin „rhopheocitoză" în eritroblaşti. Un alt mecanism de pătrundere a feritinei pare a fi direct prin membrana plasmală, datorită unei enzime care se găseşte în plasma sanguină-transferina. În eritroblaşti, moleculele de feritină formează o masă de dimensiuni variabile, cele mai mari fiind vizibile la microscopul obişnuit. Celulele care conţin fier ca eritroblaştii sînt numite sideroblaste. Eritroblaştii sintetizează hemoglobina cu care se încarcă treptat cu ajutorul fierului pe care îl va elibera din eritrocitele degenerate şi va folosi din nou, prin procesele arătate, la noua sinteză de hemoglobină.

Scanned with OKEN Scanner

Leucocitele.

Componenţa celulară a sîngelui o constituie leucocitele sau globulele albe (planşa XI).

Ele au un nucleu de forme variate (rotund, reniform, neregulat, lobat) şi citoplasma, în genere granulară, conţine granulaţii constante şi specifice, caracteristice unei categorii de leucocite numite granulocite sau granulaţii nespecifice şi inconstante, caracteristice leucocitelor agranulare. De formă rotundă şi mai mari decît eritrocitele, leucocitele sînt mai puţin numeroase, proporţia fiind de un leucocit la 600—800 globule roşii. Spre deosebire de elementele cu hemoglobină care circulă antrenate de curentul sanguin, leucocitele prezintă mişcări proprii prin emiterea de pseudopode filiforme sau de membrane ondulate; ele pot străbate peretele capilarelor trecînd în ţesutul conjunctiv unde îşi desfăşoară activitatea. În curentul sanguin sînt numai în trecere, de la ţesuturile care le generează — ţesutul mieloid şi ţesutul limfoid — către locul unde, prin diferite mecanisme, vor îndeplini funcţia de apărare a organismului; aici, ele vor îmbătrîni, vor suferi autoliza sau vor fi fagocitate de macrofage. Metabolismul leucocitelor este mai activ şi mai diferenţiat decît al eritrocitelor, fapt atestat de complexitatea structurală a citoplasmei lor, de prezenţa incluziunilor şi a enzimelor libere şi legate de organitele celulare.

Numărul leucocitelor este de 5 000—8 000 mmc la adult, indiferent de sex, fiind mai crescut la copii şi mai scăzut la bătrîni. În unele condiţii fiziologice se observă o creştere a numărului pînă la 10 000/mmc. Aceasta este *leucocitoza fiziologică* ca, de exemplu, în perioada de digestie. Leucocitoza este însă şi o constantă în cele mai multe boli infecţioase şi în unele intoxicaţii. Scăderea numărului leucocitelor sub limita normală, între 3 500 şi 4 000/mmc constituie *leucopenia,* pe care o întîlnim în cazuri patologice.

Leucocitele diferă între ele prin mărime, forma nucleului, raportul nucleocitoplasmatic şi prin granulaţiile citoplasmatice specifice. După aceste criterii se disting două categorii:

— leucocitele polimorfonucleare sau granulocitele;

— leucocitele mononucleare sau agranulocitele.

Leucocitele *polimorfonucleare* se clasifică după morfologia, structura, compoziţia chimică şi afinitatea pentru coloranţi a granulaţiilor în neutrofile, acidofile sau eozinofile şi bazofile (planşa XI).

Polimorfonuclearele neutrofile sînt cele mai numeroase leucocite din sînge; într-un mmc se găsesc 4 500, iar procentul lor din totalul globulelor albe la adult este de 60—70; creşterea numărului constituie *neutrofilia,* iar scăderea *neutropenia,* care poate duce la dispariţia lor — agranulocitoza — cu consecinţe grave.

Neutrofilia este constatată în infecţii, în focare de inflamaţie şi este fiziologică la noul născut, în travaliu, convulsii, efort fizic. Neutropenia apare sub acţiunea iradiaţiilor sau ca urmare a acţiunii toxice a unor medicamente. Neutropenia fără scăderea consecutivă a leucocitelor este rar întîlnită.

Nucleul prezintă 3—5 lobi uniţi prin filamente de cromatină. Într-un procentaj redus (1—3%) se găsesc şi leucocite cu nuclei nelobaţi — *nesegmentaţi* — în formă de bastonaş drept sau frînt asemănător unor litere, I, S, Z sau în

formă de potcoavă. Acestea sînt elemente incomplet mature a căror creştere numerică indică o incapacitate a ţesutului mieloid de a matura aceste leucocite. Există o anomalie ereditară caracterizată prin lipsa de leucocite cu nuclei segmentaţi, determinaţi probabil de imposibilitatea granulocitelor de a se matura complet (anomalia Pelger-Huët).

Numărul crescut al lobilor — *hipersegmentarea* — este frecventă în intoxicaţii şi caracterizează de asemenea o anomalie ereditară.

Pe frotiul de sînge recoltat de la femei, D a v i d s o h n şi S m i t h au semnalat prezenţa unui apendice ovoid sau sferic („drumstick") o formaţiune cromatiniană, ataşată printr-un filament foarte subţire la membrana nucleului lobilor externi; acest apendice reprezintă *cromatina sexuală* (planşa XI), al II-lea cromozom X, de aceea în mod normal lipseşte la sexul masculin. Incidenţa cromatinei sexuale este de 1—3%, dar se presupune că toate leucocitele femeilor au cromatină sexuală, apendicele fiind însă mascat de unul din lobi, situaţie ce survine în timpul maturării. Citoplasma polimorfonuclearelor neutrofile este acidofilă şi conţine granulaţii care se colorează în metoda pancromă cu eozinatul de albastru de metilen (colorant neutru) în violet: sînt *granulaţii neutrofile*. În mod normal, ele sînt fine, pulverulente şi răspîndite în toată citoplasma. În intoxicaţii sînt mari, grosolane şi hipercrome. În preparatele supravitale, granulele au mişcări active şi se colorează, prin absorbţie cu colorantul vital roşu, neutru. În *microcinematografie*, mişcările sînt însoţite de mişcări ale nucleului. Explicaţia acestui fenomen a fost dată de microscopia electronică prin demonstrarea unei legături intime între tubulii centriolilor şi membrana nucleară (M. B e s s i s).

Microscopia electronică (fig. 119) a arătat forma rotundă şi alungită a granulaţiilor specifice, lipsa unei structuri interne a lor şi le-a indentificat cu *lizozomii primari*. Printre granulaţii se remarcă relativ rare mitocondrii, veziculе şi membrane de reticul endoplasmic, puţini ribozomi şi o întinsă zonă

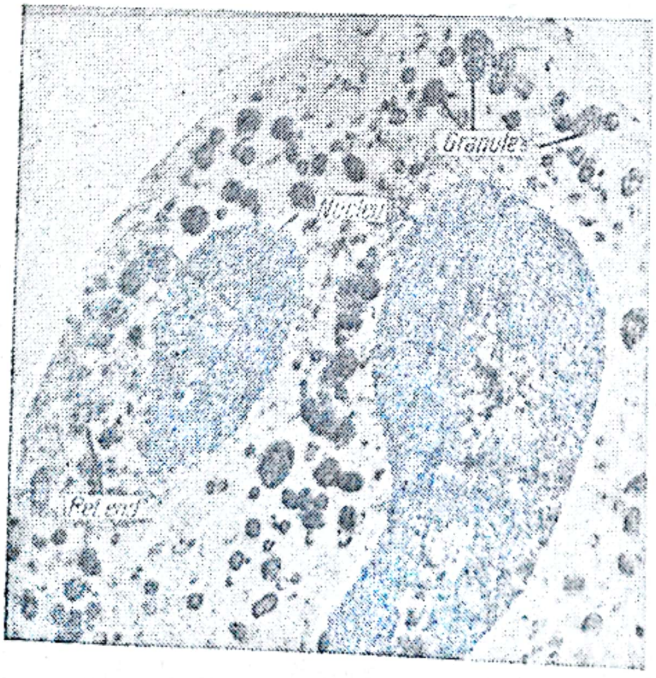


Fig. 119. Polimorfonuclear neutrofil văzut la microscopul electronic (după Copenhaver).

Scanned with OKEN Scanner

Golgi. Suprafaţa celulei este neregulată, prezentînd cute şi adînciturі prin care granulele îşi varsă conţinutul în plasmă.

Histochimia a permis decelarea incluziunilor de glicogen şi lipide şi a unui număr însemnat de enzime (planşa XVI). *Glicogenul* este constant, dar variază ca aspect şi concentraţie cu nivelul glucozei în sînge (C. Rîmniceanu şi colaboratorii) şi cu activitatea fagocitară a neutrofilelor. Glicogenul este crescut sub influenţa hormonilor steroizi. Sursa glicogenului este glucoza din mediul ambiant al neutrofilelor, plasma sanguină. În leucocite, glucoza pătrunsă prin membrana celulară şi glucoza provenită din degradarea glicogenului va fi metabolizată prin glicoliza aerobă şi anaerobă, furnizînd astfel energia mişcării şi funcţiei fagocitare a neutrofilelor. Enzimele care participă la glicoliză se găsesc în granulaţiile neutrofile şi sînt eliberate prin ruperea membranei lizozomilor la începutul fagocitozei. *Lipidele* sînt reprezentate de trigliceride şi fosfolipide. Reacţia PAS este pozitivă şi evidenţiază prezenţa substanţelor mucopolizaharidice, ca acidul hialuronic. Granulocitele neutrofile conţin şi grupări — SH — cu rol în transportul enzimelor. Prin metode histoenzimatice au fost evidenţiate peroxidaze şi enzime respiratorii, enzime care intervin în procesele de glicoliză, hidrolaze ca fosfataza acidă şi catepsina, de asemenea fosfataza alcalină, diferite enzime proteolitice, lipază ş.a.m.d. Decelarea fosfatazei alcaline este deosebit de importantă prin variaţiile activităţii sale în condiţiile fiziologice normale şi patologice. Mai crescută la femeie decît la bărbat, activitatea se intensifică în timpul gestaţiei şi sub influenţa hormonului hipofizar care stimulează secreţia hormonilor, cortexului glandei suprarenale. Fosfataza alcalină este absentă în leucemia cronică (cancerul organelor hemopoetice), în care este implicată o anomalie cromozomială. Reacţia negativă la fosfataza alcalină serveşte pentru diagnostic şi urmărirea eficienţei tratamentului aplicat. Reacţia pentru fosfataza acidă este slab pozitivă în granulocitele neutrofile în condiţii fiziologice normale, dar este intens pozitivă în leucemia cronică granulocitară, în care fosfataza alcalină este absentă şi nu se modifică în stările infecţioase. Fosfataza acidă din leucocitele neutrofile este sursa fosfatazei acide serice care prezintă valori foarte variate.

Funcţiile polimorfonuclearelor neutrofile.

Mişcarea activă prin emiterea de pseudopode, diapedeza şi fagocitoza sînt mecanismele prin care aceste leucocite intervin în apărarea organismului, funcţia majoră a tuturor leucocitelor.

Diapedeza. În sînge, unele leucocite circulă într-o dispoziţie centrală, altele circulă la periferie; acestea vor străbate peretele vascular şi vor ajunge în ţesutul conjunctiv datorită unei atracţii exercitate de anumite substanţe chimice, secretate de bacterii sau provenite din dezintegrarea ţesuturilor distruse în focare de infecţie. Diapedeza este deci rezultatul unui chimiotaxis.

Fagocitoza. Polimorfonuclearele neutrofile sînt microfage, adică ele captează, înglobează în citoplasma lor şi digeră corpi străini de dimensiuni mici, în special microorganisme patogene (bacterii). Sînt singurele microfage din organism reprezentînd primele elemente de atac care ajung în ţesutul invadat de microbi. În timpul fagocitozei, granulocitele neutrofile suferă modificări importante sub acţiunea factorilor patogeni şi a ţesutului lezat. Structura membranei este

modificată şi ea devine permeabilă pentru alte substanţe din mediul ambiant care modifică metabolismul lor.

Astfel, glicogenul din citoplasmă scade, cresc fosfolipidele, creşte consumul de oxigen. Observaţii făcute la microscopul electronic au arătat că fagocitoza este precedată de dispariţia granulaţiilor specifice şi de o extindere a reticulului endoplasmic şi a zonei Golgi. Dispariţia granulaţiilor este urmată de eliberarea din lizozomi a hidrolazelor într-o vacuolă — *vacuola fagocitară* — unde are loc digestia microorganismelor sau a microparticulelor. În urma distrugerii acestora, polimorfonuclearele neutrofile prezintă semne de degenerescenţă urmată de moarte, provocată de acţiunea microorganismelor şi acidifierea mediului, neutrofilele necesitînd pentru a trăi un mediu alcalin. Modificările mediului se datorează şi substanţelor secretate de leucocitele distruse. Dintre acestea, pirogenul leucocitar, leucatoxina, exudina, necrozina sînt substanţe responsabile de semnele observate. Neutrofilele moarte constituie globulele de puroi care vor fi fagocitate de către macrofage.

Polimorfonuclearele eozinofile (acidofile) sînt mult mai puţine decît cele neutrofile; la adult se găsesc numai 250/mmc de sînge, iar procentual între 2 şi 5 din totalul leucocitelor. Creşterea numărului eozinofilelor — *eozinofilia* — se întîlneşte în stări alergice, în unele boli de piele, în infestări cu paraziţi. Scăderea numărului eozinofilelor — *eozinopenia* — apare în unele afecţiuni în care există neutrofilie; eozinofilele lipsesc în febra tifoidă. Mai mari decît neutrofilele (au un diametru de 12—17 microni) polimorfonuclearele eozinofile (v. planşa XI) au formă rotundă, nucleul în genere bilobat, mai rar trilobat prezintă cromatină sexuală. Citoplasma conţine granulaţii specifice numeroase care, în coloraţia pancromă, apar sferice, de aceeaşi mărime, egal răspîndite şi colorate în roşu-cărămiziu cu eozină, avînd afinitate pentru coloranţii acizi.

Microscopia electronică a arătat că suprafaţa eozinofilelor nu este netedă, ci prezintă adînciturі care indică prezenţa unui proces de pinocitoză. Citoplasma conţine relativ rare mitocondrii, vezicule şi membrane ale reticulului endoplasmic, dar numeroase granulaţii de formă alungită învelite de o membrană şi conţinînd pachete de lamele dense care formează o bandă întunecată ecuatorială (fig. 120). Aceste granulaţii au fost şi ele identificate cu *lizozomii primari* (C o h n şi H i r s c h). În celula vie, granulaţiile sînt refringente şi mobile; în coloraţia supravitală cu roşu neutru apar colorate în galben-portocaliu. Ele se mişcă spre suprafaţa celulei, vărsîndu-şi produşii de secreţie în celule la nivelul concavităţilor de pinocitoză.

Citochimic s-a evidenţiat în granulocitele eozinofile glicogen, mai puţin însă decît în granulocitele neutrofile, trigliceride, fosfolipide, enzime respiratorii (citocromoxidază, dehidrogenaze ş.a.m.d.) şi peroxidaze. Granulaţiile specifice sînt formate din proteine şi lipoproteine şi conţin triptamină într-o proporţie de 1—3 din totalul histaminei din sînge (v. planşa XVI).

Funcţiile eozinofilelor. Ameboidismul, diapedeza şi fagocitoza, funcţii comune leucocitelor, sînt mai puţin active decît la neutrofile. Funcţia majoră a eozinofilelor este intervenţia lor în procesele alergice datorită conţinutului lor în substanţe cu efect antihistaminic.

Scanned with OKEN Scanner

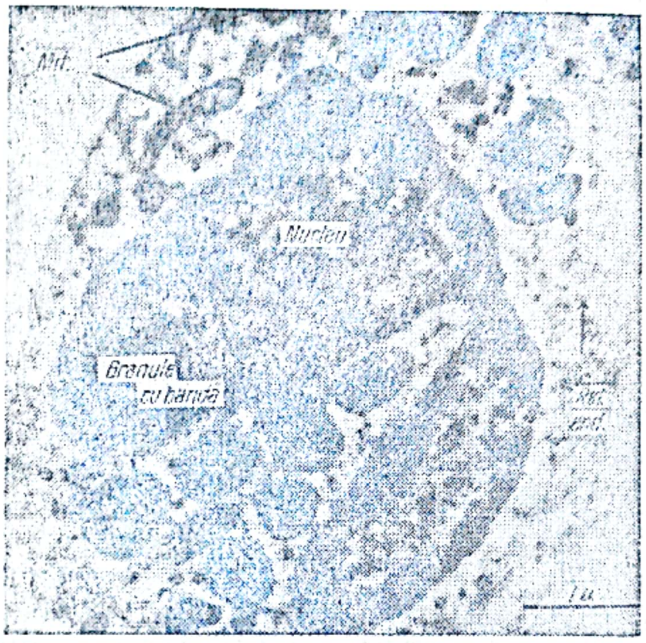


Fig. 120. Polimorfonuclear eozinofil văzut la microscopul electronic (după Copenhaver).

Polimorfonuclearele bazofile se găsesc într-un procentaj de 0,5—11 din totalul leucocitelor, aproximativ 60 dintr-un mmc de sînge. Creşterea numărului lor — bazofilia — este destul de rară; ea apare în leucemia granulocitară cronică, în anemiile feriprive, în unele boli virotice (variola, varicela). Bazofilele lipsesc în anumite condiţii fiziologice, ca: gestaţia, şi în unele afecţiuni endocrine sub influenţa secreţiei în exces a hormonului tiroidian, a hormonilor corticosteroizi, cît şi sub acţiunea razelor X.

Cu metoda pancromă (planşa XI), bazofilele apar de formă rotundă sau neregulată, avînd un diametru de 8—12 microni. Nucleul este caracteristic prin forma neregulată şi lipsa de lobulaţie. Citoplasma, slab acidofilă, conţine granulaţii specifice de mărimi şi forme variate, care se colorează în albastru sau metacromatic (violet). Granulaţiile pot dispare parţial, granularea lăsînd în citoplasmă vacuole de diferite mărimi.

În micrografiile electronice, granulaţiile apar învelite de o membrană; ele au o structură fină, lamelară, fiind formate din numeroase lamele mai puţin dense la electroni decît lamelele din granulaţiile eozinofile (fig. 121). Granulaţiile dau reacţia PAS+, ceea ce indică componenţa lor polizaharidică; reacţia la peroxidaze este negativă (planşa XV). Organitele nespecifice sînt slab reprezentate. Bazofilele secretă heparină, substanţă anticoagulantă a sîngelui şi histamină; 1/2 din totalul histaminei sanguine are această proveniență. Motilitatea, diapedeza şi capacitatea de fagocitoză sînt reduse.

Geneza polimorfonuclearelor (planşa XII). Primele leucocite granulare apar în a 6-a săptămînă a vieţii embrionare, în primordiul hepatic, apoi în splină, iar din a 3-a lună şi în măduva osoasă şi în ganglionii limfatici. Începînd cu luna a 5-a, măduva osoasă preia treptat funcţia granulocitară, rămînînd sediul principal de formare, maturare şi eliberare a lor în circulaţia sanguină, ca şi a

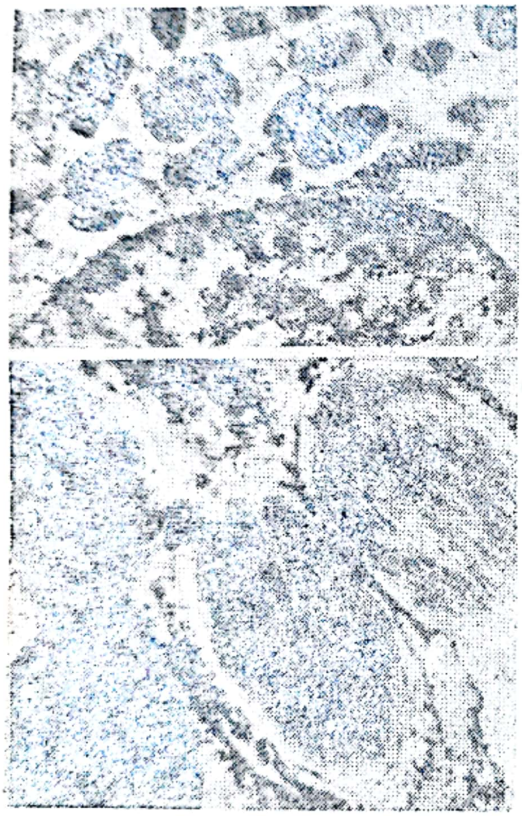


Fig. 121. Polimorfonuclear bazofil văzut la microscopul electronic (după Copenhaver).

eritrocitelor; eritropoeza şi granulopoeza devin funcţii exclusive ale măduvei pe care le va îndeplini în tot cursul vieţii.

Granulocitele provin tot din *hemocitoblast*, ce se va diferenţia în *mieloblast*, care este celula susă a seriei granulocitare cu o talie de 18—22 microni; acesta este un element mai mic, dar cu caractere mult asemănătoare hemocitoblastului. Nucleul sferic, cu cromatina foarte fină în reţea, are 2—4 nucleoli ce prezintă o nuanţă uşor albăstruie. În citoplasma bazofilă (albastru-deschis) se poate observa apariţia primelor granulaţii azurofile rare.

Din mieloblast, prin mitoză şi diferenţiere apare *promielocitul* — ceva mai mic decît mieloblastul. Este o celulă cu nucleu sferic care mai prezintă încă nucleoli; citoplasma este mai bogată, mai slab bazofilă şi cu granulaţii azurofile de culoare. purpurie. Juxtanuclear, în concavitatea nucleului se constată o zonă lipsită de granulaţii — arhoplasma. Imaginile de microscopie electronică precizează că această zonă corespunde complexului Golgi. Pe lîngă granulaţiile azurofile se mai pot observa şi granulaţii fine şi foarte rare, neutrofile sau eozinofile. Începutul apariţiei lor coincide cu scăderea polinucleotidelor din citoplasma promielocitului tînăr. Promielocitele, prin aceleaşi procese de mitoză şi diferenţiere, vor evolua în *mielocite*, celule mai mici, cu nucleu ovoid sau uşor scobit, fără nucleoli, cu citoplasma total acidofilă în care se disting granulaţii specifice neutrofile, eozinofile, bazofile. Apar astfel 3 tipuri de mielocite după caracterul granulaţiilor lor. Mielocitele, prin mitoze, prin modificarea nucleului care ia forma de potcovă sau de baston drept sau frînt şi prin maturarea granulaţiilor specifice din citoplasma acidofilă, se transformă în *metamielocite*, care pot fi eliberate în sînge, în mod normal în proporţie de 1—3% din totalul leucocitelor maturate.

Scanned with OKEN Scanner

Prin segmentarea nucleului şi maturarea completă a tuturor granulaţiilor specifice, măduva osoasă hematogenă trimite în circulaţie formele mature, polimorfonuclearele neutrofile, eozinofile şi bazofile. Acestea constituie produsul final al granulocitopoezei, fiind lipsite de proprietatea de a se multiplica şi transforma în alte tipuri de celule. Ele reprezintă grupul granulocitelor circulante. În sînge se găsesc şi granulocite marginale sub formă de depozite ataşate de pereţii vaselor. Între granulocitele circulante şi cele de depozit există un echilibru perfect. Rezerva esenţială de granulocite din care ele se pot mobiliza la nevoie sînt reprezentate numai de celule din măduvă.

Granulopoeza este mai puţin activă la bătrîni datorită involuţiei măduvei osoase hematogene.

În curentul sanguin, granulocitele trăiesc numai cîteva ore (7—9 ore); în afara circulaţiei, durata lor de viaţă nu s-a putut stabili, unele degenerînd în urma activităţii lor în ţesutul conjunctiv, altele fiind distruse în ficat, splină, ganglioni limfatici sau, trecînd prin mucoasa organelor cavitare, dispar în salivă, în tractul gastrointestinal, în căile aerifere.

Mononuclearele sau leucocitele agranulare. Din această categorie fac parte limfocitul şi monocitul.

Limfocitul. În sîngele circulant se întîlnesc limfocite cu diametrul între 6 şi 8 microni, limfocite cu diametrul între 8 şi 10 microni şi foarte rare, al căror diametru variază între 12 şi 15 microni. Pe criteriul diametrului lor, limfocitele au fost clasificate în limfocite mici, mijlocii şi mari. În realitate, între limfocitele mici şi mijlocii nu există decît o diferenţă dimensională, structura lor fiind asemănătoare. Limfocitele mari au o altă structură, fiind elemente incomplet mature. Numărul limfocitelor în valoare absolută variază între 1 000—2 000/mmc, iar procentul între 25 şi 35 din totalul leucocitelor. Numărul crescut al limfocitelor — *limfocitoza* — este fiziologică la copil şi în perioada de digestie la adult. Limfocitoza se întîlneşte în unele boli infecţioase, ca: tusea convulsivă, pojarul, tuberculoza. Numărul limfocitelor este excesiv de crescut în leucemia limfatică. O scădere a numărului limfocitelor se constată în infecţiile grave; sub influenţa razelor u.v. şi a razelor X se produce o *limfopenie* care, după încetarea acţiunii lor, trece în limfocitoză.

În coloraţia pancromă (planşa XI), limfocitele apar sferice, cu un nucleu cu cromatina densă, uneori cu nucleol. S-a constatat la unele limfocite şi prezenţa cromatinei sexuale. Nucleul este sferic sau oval, uşor scobit şi situat central sau excentric. Citoplasma, foarte îngustă, este intens bazofilă la periferie, datorită numărului mare de ribozomi liberi şi mai palidă în jurul nucleului unde se găseşte zona Golgi. Citoplasma, unor limfocite conţine puţine granulaţii fine nespecifice, cu afinitate pentru colorantul Azur II — granulaţii *azurofile* — de culoare purpurie. În preparatele supravitale, la temperatura de 37°, limfocitele se mişcă printre celelalte leucocite, emiţînd un pseudopod, citoplasma alungîndu-se şi înaintînd prin mişcări ondulatorii, cu nucleul în front.

În preparatele supravitale colorate cu roşu neutru apar în citoplasmă vacuole şi granule, iar cu verdele Janus, B, mitocondrii granulare în formă de bastonaş, aglomerate adesea în regiunea din vecinătatea scobiturii nucleului. Mitocondriile apar mai numeroase la microscopul cu contrast de fază şi în microscopia

Scanned with OKEN Scanner

Fig. 122. Limfocit văzut la microscopul electronic (după Copenhaver).

electronică. Ele prezintă modificări numerice şi structurale în legătură cu evoluţia limfocitului. Reticulul endoplasmic este în genere sărac, dar ribozomii liberi sînt numeroşi (fig. 122).

Histochimia a demonstrat prezenţa glicogenului în unele limfocite; prin reacţia PAS s-a constatat că glicogenul este crescut în limfocitoza fiziologică şi în afecţiunile cu limfocitoză, mai ales în leucemia limfatică (C. Rîmniceanu şi colaboratorii). Rare limfocite conţin, în cantitate redusă, trigliceride şi fosfolipide. Reacţia la oxidaze şi peroxidaze este negativă. Fermenţii proteolitici sînt puţini. Limfocitele conţin lipază şi fosfatază acidă.

Funcţiile limfocitelor. Limfocitul mic, considerat multă vreme ca stadiu final al evoluţiei seriei limfocitare, s-a dovedit a fi numai un stadiu de repaus temporar al unei celule multipotenţiale (Ioffrey ş.a.), putînd redeveni activ sub influenţa unor stimuli diferiţi. Această potenţă a fost demonstrată în culturi in vitro de limfocite umane circulante. O serie de cercetări au experimentat cu o mucoproteină extrasă din *Phaseolus vulgaris* numită phitohemaglutinină, care a provocat in vitro transformarea plastică şi multiplicarea limfocitelor din sîngele circulant (Astaldi G., Cooper E. A. ş.a.).

Limfocitele, ca toate leucocitele, sînt numai în trecere prin sînge. Datorită mobilităţii lor care le permite traversarea pereţilor capilarelor, ele ajung în ţesutul conjunctiv, de unde pe calea limfatică vor ajunge din nou în sînge. Această recirculaţie este importantă pentru rolul pe care îl joacă limfocitele în procesul de imunitate. În ţesutul conjunctiv, limfocitul se transformă în celule conjunctive: fibroblaşti, histiociţi, plasmocite, iar ajunse în organele hemopoetice, el constituie precursorul elementelor sanguine.

Scanned with OKEN Scanner

Limfocitele sînt elemente de apărare a organismului contra infecţiilor. Capacitatea lor de fagocitoză este redusă, dar ele intervin indirect prin transformarea lor în macrofage, celule cu mare activitate fagocitară.

Un alt mecanism prin care limfocitele participă la apărarea organismului este producerea de anticorpi. Anticorpii sau corpii imuni sînt proteine specifice care apar ca răspuns la acţiunea proteinelor străine (de exemplu, bacterii) pătrunse în sînge şi în ţesuturi. Aceste proteine străine, care stimulează producerea de anticorpi, se numesc antigene.

Corpii imuni sînt în genere specifici faţă de antigenul care a cauzat producerea lor. Anticorpii sînt de tipul gamaglobulinelor din plasma sanguină. Metoda fluorescenţei corpilor imuni a arătat că producerea anticorpilor este o funcţie a unor limfocite — *limfocite imunocompetente* — şi că plasmocitele sînt celule cu funcţia majoră de sinteză a anticorpilor. Cu ajutorul timidinei tritiate s-a constatat transformarea limfocitelor mari în plasmocite. Limfocitele din organele limfopoetice sînt însă cele dintîi elemente care, venind în contact cu un antigen, vor fi stimulate să producă anticorpi. Aceste limfocite, la o ulterioară stimulare, se vor transforma în plasmocite imunocompetente. În sîngele periferic, limfocitele imunocompetente au reticulul endoplasmic dispus perinuclear, sub formă de lamele, şi o zonă Golgi dezvoltată. Limfocitele imunocompetente, în cazul transplantelor de ţesut de la aceeaşi specie (hemografă) sau de la altă specie (heterografă), formează aglomerări în jurul grefei, producînd resorbţia ei. Aceste limfocite au rol în respingerea transplantelor genetic incompatibile. Ele seamănă mult cu plasmocitele.

Limfocitul participă la imunitate şi prin transmiterea informaţiei antigenice primită de la precursorii săi, la celule care sintetizează anticorpi: plasmocitele şi celulele reticulare.

Geneza limfocitelor (planşa XII). Limfocitele apar în perioada embrionară în stadiul medulo-ganglionar, din hemocitoblast. În cursul vieţii, ele se formează în organele limfopoetice (ganglioni limfatici, splină, amigdale ş.a.) şi în măduva osoasă hematogenă, producătoare a tuturor elementelor sîngelui.

Din hemocitoblaşti se diferenţiază *limfoblaştii*, care sînt o celulă rotundă, mare, de 10—15 microni. Nucleul cu cromatina dispusă regulat, conţine 1—2 nucleoli. Citoplasma de culoare albastră deschis este redusă, dar conţine un număr important de mitocondrii dispuse într-o singură parte a celulei. Prin mitoza şi diferenţierea limfoblaştilor iau naştere *prolimfociţii* sau *limfocitele mari*, celule mai puţin voluminoase ca precursorii lor a căror citoplasmă este mai slab bazofilă şi al căror nucleu are cromatina mai densă cu sau fără nucleoli. Aceştia proliferează activ şi se transformă în *limfocite medii şi mici*, celule mature care trec în circulaţie pe calea limfocitelor sau prin pereţii capilarelor sanguine din organele limfopoetice.

Durata de viaţă a limfocitelor în curentul sanguin variază foarte mult; unele trăiesc 3—4 zile, altele prin recirculaţie şi prin reluarea ciclului au o viaţă mai lungă de 100—200 de zile.

Limfocitele se distrug în parte în focarele de infecţie, altele trec în salivă, în sucurile gastrointestinale sau în lumenul organelor cavitare unde mor, sau sînt distruse chiar în organele hemoformatoare.

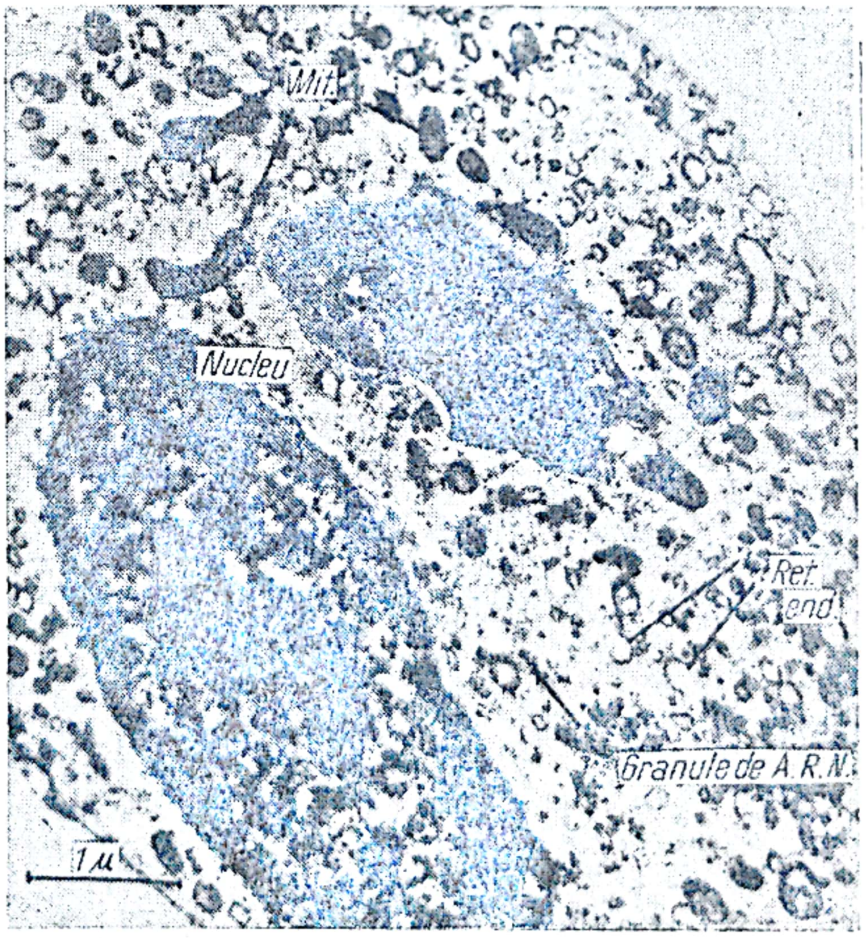
Scanned with OKEN Scanner

Monocitul. Cele mai mari leucocite din sînge sînt monocitele, al căror diametru variază între 15 şi 25 microni; ele se găsesc în proporţie de 3—8% globule albe, în valoare absolută nu depăşesc 500/mmc de sînge.

Numărul crescut, *monocitoza*, se întîlneşte în unele infecţii bacteriene (tuberculoza, febra tifoidă), în unele intoxicaţii, în malarie şi este caracteristic pentru febra monocitară.

În coloraţia pancromă (planşa XI), nucleul cu dispoziţia centrală sau excentrică este sferic, ovoid, în potcoavă sau reniform, cu blocuri fine de cromatină ce se colorează mai palid decît la limfociţi şi este lipsit de nucleol; uneori, cromatina apare în şuviţe, dînd aspectul de nucleu „pieptănat". Citoplasma este abundentă, subţire şi palidă, de culoare albastră-cenuşie şi conţine numeroase granulaţii fine azurofile. Adesea, citoplasma apare vacuolară. În preparatul proaspăt, la microscopul cu contrast de fază, se observă mişcările ondulatorii bruşte şi prezenţa mitocondriilor. În preparatele colorate supravital, roşu neutru evidenţiază vacuole dispuse în rozetă, iar verdele Janus B — mitocondrii mici, sferice, bastonaşe scurte. Microscopia electronică demonstrează în plus un bogat reticul endoplasmic cu puţini ribozomi şi mitocondrii numeroase dispuse mai ales în jurul rozetei formate din vacuolele din zona Golgi (fig. 123).

Fig. 123. Monocit văzut la microscopul electronic (după Copenhaver).



Citochimic a fost decelat glicogen (numai în unele monocite) ARN, trigliceride şi fosfolipide, oxidaze, peroxidaze, fosfatază acidă (planşa XV), enzimele metabolismului lipidic.

Funcţiile monocitelor. Monocitele, prin mişcările lor ondulatorii, străbat pereţii capilarelor şi ajung în focarele infecţioase unde se transformă în *macrofage,* celule cu metabolism mai activ, cu conţinut bogat în enzime cu acţiune asupra proteinelor, carbohidraţilor şi lipidelor. Prin lipaza abundentă pe care o conţin, aceste monocite modificate pot fagocita şi bacilul tuberculozei, bacil cu capsulă lipoidică care nu poate fi atacată de microfage.

Monocitele, prin funcţia de fagocitoză, intervin în ultimul stadiu al procesului inflamator, curăţind terenul de globulele de puroi şi favorizînd astfel regenerarea ţesutului lezat. Ele se comportă deci ca şi histiociţii, de aici şi denumirea de histiociţi-monociţi.

Originea monocitelor este încă discutată. După o concepţie monocitele se dezvoltă din monoblaşti, mai ales în splină (planşa XII); chiar şi celulele endoteliale care formează pereţii capilarelor pot constitui surse pentru formarea monocitelor.

Monoblastul este o celulă mare, cu diametrul de 25—30 microni cu nucleul voluminos, rotund sau cvatrangular, aşezat excentric, alipit adesea de membrana celulară. Cromatina este fină, în reţea şi slab colorată cu metoda pancromă. Prezenţa a numeroşi nucleoli este constantă. Citoplasma palidă, albastră-cenuşie, conţine adesea fine granulaţii azurofile. După altă concepţie, monocitul provine din mieloblast, ca şi granulocitele, avînd ca precursor tot hemocitoblastul.

Plachetele sanguine sau *trombocitele* sînt elemente acelulare provenite din fragmentarea citoplasmei unei celule gigante, caracteristică ţesutului mieloid la om, *megacariocitul granular.* Planchetele sanguine, ca şi eritrocitele, îşi desfăşoară activitatea în curentul sanguin, alcătuind împreună adevărata populaţie microscopică a sîngelui. Plachetele sînt elemente cu rol major în coagularea sîngelui.

Forma lor, în preparatul proaspăt, este rotundă sau ovoidă, dar în timpul activităţii, forma devine neregulată prin emiterea de prelungiri subţiri şi lungi, care se observă uşor la microscopul electronic (fig. 124).

Plachetele sînt cele mai mici elemente sanguine, diametrul lor fiind de 2—4 microni.

În cazuri patologice se observă însă şi elemente mai mari — *macrotrombocite* — şi plachete gigante sau mai mici — *microtrombocite.*

Numărul plachetelor la adult este de 200 000—400 000/mmc în sîngele venos şi mai crescut (500 000) în sîngele arterial, suferind însă variaţii fiziologice zilnice constante, prezentînd un maximum după-amiază şi un minimum în timpul nopţii. Aceste variaţii nictemerale sînt în raport cu simpaticotonia diurnă şi cu vagotonia nocturnă. Există variaţii cantitative fiziologice şi sub influenţa hormonilor. Astfel, numărul lor este crescut ca efect al acţiunii hormonilor secretaţi de corticala suprarenalei şi a hormonului hipofizar (ACTH), care influenţează secreţia acestor hormoni corticoizi. Se cunosc oscilaţii numerice şi sub influenţa hormonilor sexuali: în timpul ciclului menstrual s-a semnalat o

Scanned with OKEN Scanner

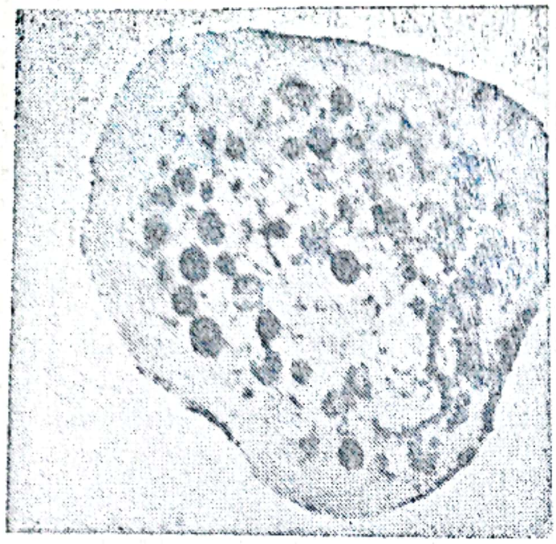


Fig. 124. Plăcuță sanguină văzută la microscopul electronic. Trombocit normal; membrana apare bine conturată, iar granulațiile dense și proeminente (după Emil R. Popescu).

creștere în perioada premenstruală, de asemenea și în timpul sarcinii; reglarea numărului este deci sub dependența sistemului neuroendocrin. În condiții patologice se constată o creștere numerică după hemoragii și o scădere în urma extravazării de sînge.

Scăderea trombocitelor sub 100 000 — *trombocitopenia* — se întîlnește ca rezultat al expunerii la agenți chimici (antimetabolite, substanțe alkilante) sau fizici (izotopi radioactivi, raze X) sau poate să apară și în cursul unor boli de bază — neoplazii. Un număr crescut de trombocite — *trombocitoza* — se constată după traumatisme, intervenții chirurgicale, infecții cronice. Un număr mult crescut, excesiv, atingînd limita de 5—10 ori peste normal, constituie *trombocitemia*, caracteristică unor stări patologice (trombocitemia esențială).

În frotiurile colorate cu metoda pancromă, plachetele apar sub aspectul de agregate de forme neregulate și uneori chiar izolate. Izolarea este caracteristică unor stări patologice.

La microscopul optic cu coloratia obișnuită se remarcă două zone: o zonă centrală cu granulații colorate în violet, neomogenă, numită *granulomer* sau cromomer, și o zonă periferică, hialină, ușor bazofilă — *hialomer*. Datele de *microscopie electronică* precizează că aspectul trombocitului dat de imaginile optice nu corespunde realității. Astfel, este de remarcat că granulele cromomerului sînt repartizate și în hialomer de la un pol la celălalt al celulei în grămezi (alfa, beta, gama, delta), delimitate de membrane groase de 50 Å. Se cunosc o serie de date care demonstrează că unele granule sînt molecule de feritină, iar cele care aparțin grupei β sînt mitocondrii. În ceea ce privește membrana plasmatică care îl delimitează, aceasta amintește prin structură modelul membranei de tip „unit" descrise de Robertson. Este groasă de 60 Å și prezintă pseudopode.

Compoziție chimică. Deși considerat din punct de vedere morfologic „pitic" trombocitul este un „gigant funcțional", de o individualitate bine definită și datele cele mai noi sînt o completare esențială asupra cunoașterii participării trombocitului în derularea proceselor metabolice active. Un important sistem

enzimatic demonstrează metabolismul activ al acestor elemente (peptidaze, nucleotidaze, fosfataza acidă şi alcalină. S-a evidenţiat în trombocit, glicogen, fosfolipide, ARN şi s-a confirmat prin reacţia Feulgen absenţa ADN. Trombocitele conţin şi taurină, serotonină, histamină, adrenalină; nu se poate spune însă cu precizie dacă substanţele sînt depozitate pe trombocite sau dacă trombocitele au rol numai de vehicul. Dar, mai mult decît atît, s-a constatat că trombocitele au o structură antigenică. Din acest punct de vedere se cunosc o serie de date care stabilesc că o parte din antigenele trombocitare sînt comune cu cele descrise pe suprafaţa eritrocitului. ADP este un constituent normal al trombocitului. Defosforilarea ADP în AMP (adenozinmonofosfat) în cursul alterării membranei permite eliberarea de ADP, furnizînd energia necesară modificărilor morfologice ale trombocitului (agregarea). Plachetele conţin şi un număr foarte mare de factori care intervin în coagulare, evidenţiaţi ca factori I, II, III, IV şi V. Dintre aceştia, factorul III este factorul trombocitar cel mai important în coagulare.

Funcţiile plachetelor sanguine. Capacitatea de agregare, de adezivitate, de aglutinare, datorită se pare nu numai fibrinogenului plasmatic ci şi celui plachetar, conferă acestor corpusculi un rol important în *hemostază.* În urma unei leziuni vasculare cu pierdere de substanţă, ele vor forma prin aglutinare şi transformare un coagul care va astupa defectul din peretele vasului, împiedicînd astfel hemoragia. În formarea acestui cheag, plachetele aglutinate suferă o *metamorfoză vîscoasă,* care se traduce printr-o umflare a lor, însoţită de eliberarea fibrinogenului plachetar care măreşte adezivitatea lor. În timpul agregării, plachetele emit pseudopode, formînd prin legăturile dintre ele o reţea, care stă la baza coagulării primare.

În timpul metamorfozei vîscoase se eliberează şi serotonină, care are rol vasoconstrictor şi se eliberează Ca^{++} trombocitar, necesar coagulării. La microscopul electronic s-a observat eliberarea de microzomi. Granulomerul, prin condensarea lui, joacă un rol important în formarea reţelei de fibrină, iar prin liza lui ulterioară se eliberează enzimele implicate în retracţia cheagului. Dacă este împiedicată liza, cheagul nu se mai retractă. Factorul important în retracţie este o proteină contractilă (actinotrombostenina) şi scăderea de ATP. Modificări ale structurii plachetelor în boli ale ficatului, în carenţa de vitamină C, hemofilii ş.a. determină tulburări ale procesului de metamorfoză vîscoasă, ceea ce explică hemoragiile ce însoţesc aceste stări patologice. Plachetele sanguine au rol în imunitate prin conţinutul lor în antigene, unele asemănătoare cu cele din eritrocite (sistemul ABO şi factorul Rh) şi capacitatea reală de a fagocita complexe imune, particule de cărbune, virusuri. Microscopia electronică a demonstrat şi *funcţia de transport* a particulelor de grăsimi.

Geneza plachetelor (planşa XII) din megacariocite, postulată pentru prima dată de către W r i g h t (1906), a fost confirmată de preparatele vitale observate la microscopul cu contrast de fază.

Într-un frotiu de măduvă osoasă roşie, colorat cu metoda pancromă, se pot urmări fazele de evoluţie de la celula primară, *hemocitoblastul,* pînă la elementele acelulare.

Din hemocitoblast, prin proliferare şi diferenţiere ia naştere *megacarioblastul*, celulă de două ori mai voluminoasă decît mieloblastul, cu formă neregulată, nucleu multilobulat (4—8 lobi), cu nucleoli numeroşi şi o citoplasmă bazofilă lipsită de granulaţii. Forma evoluată a acestui element, *promegacariocitul*, se distinge de predecesorul său numai prin prezenţa granulaţiilor citoplasmatice azurofile. Din promegacariocit, prin maturare, apare *megacariocitul matur*. Acesta se prezintă sub formă de megacariocit granular (formă inactivă), care nu formează trombocite, şi megacariocit trombocitogen (formă activă). Megacariocitele active au un diametru de circa 60 microni, nucleul mai poliploid, lobulat sau cu lobulii suprapuşi, dînd impresia unui nucleu veziculos, sau nelobaţi, rotunzi, ovali. Citoplasma acidofilă este bogată în granulaţii azurofile, fine, uneori foarte dense, acoperind chiar nucleul.

La microscopul cu contrast de fază s-a putut urmări separarea plachetelor din citoplasma megacariocitului activ. Acesta emite pseudopode care la atingerea cu peretele capilarului sanguin se vor fragmenta şi vor elibera în sînge plachete. Un megacariocit dă naştere la aproximativ 2 000 de plachete, dintre care o parte va circula în sînge, iar cea mai mare parte va constitui o rezervă localizată în splină şi plămîn care va trece în circulaţie după hemoragii. Procesul de formare a plachetelor durează 4—5 zile, iar eliberarea lor 3—12 ore. Prin izotopi radioactivi s-a apreciat durata de viaţă a plachetelor în circulaţie între 8 şi 11 zile; ele se disting în procesul de hemostază şi în unele organe ca splina şi plămînul.

HEMOPOEZA. SISTEMUL HEMOPOETIC

Din cele relatate în capitolul precedent reiese că viaţa elementelor figurate este de scurtă durată în curentul sanguin şi totuşi numărul lor este constant, în anumite limite fiziologice normale. Această constantă se datorează unui proces de regenerare — *procesul hemopoetic* — care începe în perioada embrionară între a 15-a şi a 18-a zi a dezvoltării şi continuă toată viaţa. Acest proces biologic se desfăşoară în ţesuturi şi organe numite hemopoetice, al căror ansamblu constituie sistemul hemopoetic specializat în formarea, maturarea şi eliberarea în sînge a elementelor mature. Pe lîngă rolul de regenerator, sistemul hemopoetic are şi rolul de a distruge elementele celulare şi acelulare ale sîngelui, îmbătrînite, degenerate, îndeplinind astfel funcţia de *hemoclazie*.

Între funcţia de poeză şi cea de clazie există un „echilibru dinamic" de care depinde construcţia microscopică a sîngelui şi care se realizează prin mecanisme complexe. Menţinerea echilibrului normal al eritrocitului se efectuează prin intermediul eritropoetinei (proteină de tip — globulină produsă în ţesutul peritubular din rinichi), a cărui producere este dependentă de nivelul tensiunii de O_2 din sînge. O scădere a tensiunii O_2 din sînge prin distrugere fiziologică eritrocitară stimulează producerea eritropoetinei. Nu este complet elucidat dacă în sînge se găsesc şi hemo- şi trombocitopoetine cu rol în reglarea leuco-

Scanned with OKEN Scanner

citelor şi a trombocitelor. Nu sînt încă nici date precise asupra rolului hormonilor şi sistemului nervos în hemopoeză şi nu s-a arătat nici suficient de convingătoare observaţia că simpaticul stimulează măduva, în timp ce sistemul nervos parasimpatic îl deprimă.

Cunoaşterea hemopoezei are o deosebită importanţă pentru înţelegerea bolilor sîngelui care sînt tulburări ale acestui proces. Cunoaşterea morfologiei şi citochimiei elementelor figurate ale sîngelui şi sistemului hemopoetic este indispensabilă pentru diagnostic. În procesul hemopoezei distingem două perioade:

1. Hemopoeza prenatală.
2. Hemopoeza postnatală.

1. **Hemopoeza prenatală** (embrionară şi fetală) se desfăşoară în stadii marcate de apariţie a noii primordii de organe hemoformatoare; stadiile nu sînt net delimitate, un stadiu începînd în timp ce se desfăşoară încă hemopoeza din stadiul anterior.

a. *Stadiul mezoblastic.* În cea de-a 2-a săptămînă a dezvoltării embrionare începe activitatea hemopoetică în mezenchimul extraembrionar din peretele veziculei viteline, prin apariţia din celulele mezenchimale a hemocitoblaştilor, celule care prin procese de diferenţiere, proliferare şi maturare vor genera *seria eritrocitelor primare* (seria megaloblastică, v. p.), primele elemente cu hemoglobină. Din a 3-a săptămînă, în timp ce se desfăşoară această activitate extraembrionară, începe şi hemopoeza în mezenchimul intraembrionar, rezultatul fiind tot formarea de elemente primitive cu hemoglobină.

b. *Stadiul hepatic* începe în a 6-a săptămînă a dezvoltării embrionare prin apariţia de hemocitoblaşti din celulele mezenchimale din mugurele hepatic. Aici apar, pe lîngă eritroblaşti primitivi, *eritroblaşti definitivi,* care vor înlocui treptat pe cei primitivi. Pe lîngă seria eritrocitară, în mezenchimul hepatic vor lua naştere, tot din hemocitoblaşti, precursorii *seriei granulocitare* şi ai *seriei trombocitare,* cît şi unele limfocite mari. Hemopoeza hepatică durează pînă în luna a 5-a a gestaţiei, totuşi unele elemente din seria eritrocitară se mai formează şi în primele săptămîni după naştere.

c. *Stadiul timic.* Timusul apare timpuriu în dezvoltarea embrionului, dar el nu va produce elemente din seria eritrocitară decît în mod sporadic; el este primul organ în care, din hemocitoblaşti, se vor diferenţia şi matura cele mai multe *limfocite,* care prin migrare vor constitui majoritatea populaţiei splinei şi a ganglionilor limfatici.

d. *Stadiul splenic* începe în luna a 3-a a gestaţiei. Iniţial, mugurele splenic îndeplineşte funcţia de distrugere a seriei eritrocitare primare care prin acest stadiu va dispare total, şi a elementelor roşii definitive, îmbătrînite. O dată cu stabilirea unei circulaţii mai active, splina devine generatoare de eritrocite şi granulocite. Funcţia eritropoetică şi granulopoetică persistă pînă la luna a 5-a, cînd începe o activitate limfopoetică care se dezvoltă pe măsură ce dispare eritro- şi granulopoeza devenind funcţia hemopoetică a splinei.

e. *Stadiul ganglionar.* Ganglionii apar în luna a 3-a a gestaţiei, dar abia după naştere au completa lor dezvoltare. Iniţial sînt eritropoetici şi granulopoetici, ulterior sub influenţa timusului devin exclusiv limfopoetici.

Scanned with OKEN Scanner

f. *Stadiul medular.* Hemopoeza apare în clavicule în a 3-a lună a vieţii fetale şi apoi se extinde în celelalte oase. Începînd cu luna a 5-a, măduva preia treptat funcţia eritropoetică, granulopoetică şi trombopoetică, pentru ca după naştere să rămînă sediul exclusiv de formare a eritrocitelor, granulocitelor şi plachetelor, care nu se mai formează în mod normal în alte organe hemopoetice. Producţia de limfocite şi monocite în măduvă este foarte mică. În mod tranzitoriu, în diferite perioade ale gestaţiei, elementele figurate pot lua naştere în ţesutul conjunctiv şi din alte organe (rinichi, suprarenale).

2. **Perioada postnatală** are loc în ţesutul limfoid care constituie „parenchimul" organelor limfopoetice (timus, ganglioni limfatici, splină) şi alte formaţiuni limfoide din diferite regiuni ale ţesutului conjunctiv lax şi în ţesutul mieloid caracteristic măduvei osoase hematogene. *La copil,* ţesutul limfopoetic este mai activ, limfocitele mari sînt elemente predominante. Ţesutul mieloid localizat în măduva tuturor oaselor conţine un mare număr de elemente tinere şi mai puţin în curs de maturare. *La adult,* eritropoeza, mielopoeza (granulopoeza), trombopoeza au loc în ţesutul mieloid (planşa XIII), localizat în măduva oaselor plate, a epifizelor oaselor lungi, în corpul vertebrelor; elementele pe cale de maturare sînt cele mai numeroase. Ţesutul limfoid este caracterizat printr-un mare număr de elemente în stadiu de maturare.

La bătrîni, elementele figurate se formează în aceleaşi organe, procesul este însă mai puţin activ, deoarece aceste organe sînt în involuţie.

Concepţiile asupra hemopoezei. Dacă etapele parcurse în procesul hemopoezei, de la elementul tînăr la cel matur, sînt bine stabilite, în ceea ce priveşte natura celulei primordiale există divergenţe, hematologii realindu-se la una dintre cele trei concepţii: monofiletică, dualistă şi polifiletică.

În concepţia monofiletică, ai cărei promotori sînt Maximov, Pappenheim, Ferrata, Downey, *hemocitoblastul* este celula multipotenţială care va da naştere celulelor cap de serie în ţesutul limfoid şi mieloid. În această concepţie, limfocitul este considerat element multipotent, putînd da naştere, ca şi hemocitoblastul, tuturor elementelor sanguine, limfocitul fiind echivalent hemocitoblastului, avînd caractere comune morfologice şi funcţionale: celulă rotundă cu nucleu mare, cu nucleoli, citoplasmă puţină, bogată în ARN, specializată în sinteza de proteine. Dualiştii (Sabin ş.a.) consideră că limfocitele, granulocitele şi monocitele sînt generate de o celulă primordială — celulă albă primitivă — iar eritrocitele şi megacariocitele se dezvoltă dintr-o celulă endotelială, care căptuşeşte lumenul capilarelor. Pentru polifiletişti (Schilling ş.a.), fiecare serie se dezvoltă dintr-o celulă primordială.

Această divergenţă de opinii îşi găseşte explicaţia în asemănarea morfologică dintre precursori.

Sîntem adepţi ai concepţiei monofiletice, care este sprijinită de rezultatele obţinute prin folosirea izotopilor radioactivi pentru marcarea celulelor, ale autoradiografiilor şi altor metode biologice, cu rezerva că, dacă un anumit tip de celulă este stimulat, diferenţierea celulelor reticulare spre tipul de celulă solicitat se face după modelul polifiletic al hemopoezei.

Scanned with OKEN Scanner

ŢESUTURILE MUSCULARE

GENERALITĂŢI

Ţesuturile musculare sînt adaptate funcţiei de *contracţie-muscularitate.* Semnele principale ale dezvoltării acestei funcţii sînt: *forma celulei* care devine alungită, transformîndu-se în fibră musculară; *apariţia miofibrilelor,* în citoplasmă reprezentînd organitul special al celulei; *organitele comune* şi celelalte structuri celulare iau *poziţii caracteristice* (nucleul, mitocondriile, aparatul Golgi, reticulul endoplasmic etc.) şi *iau denumiri proprii fibrei musculare* (sarcolemă, sarcoplasmă, reticul sarcoplasmic etc.).

Contractilitatea ţesutului muscular este coordonată pe cale nervoasă (sistemul nervos de relaţii sau sistemul nervos autonom) De aceea, ţesuturile musculare sînt bogat inervate şi sînt excitabile. Capacitatea de a da un răspuns specific (contracţia) la un stimul nervos sau o excitaţie se datorează unor legături între fibrele nervoase şi fibrele musculare. La nivelul acestor legături (plăcile motorii pentru fibrele musculare striate, terminaţiile libere pentru fibrele musculare netede şi fibrele musculare cardiace) se realizează *cuplarea excitaţiei* cu contracţia. La realizarea acestui proces îşi adaugă activitatea şi unele dispozitive ultramicroscopice din fibrele musculare, în special reticulul endoplasmic care apare sub numele de triade sau diade în ţesutul muscular striat şi în miocard.

O altă proprietate a ţesuturilor musculare este *conductibilitatea,* a cărei bază ultrastructurală o constituie sistemul de membrană şi deplasarea ionilor de-a lungul acestui sistem.

Ţesuturile musculare sînt şi sediul unor intense *procese metabolice.* De aceea, ele sînt în strînsă relaţie cu ţesuturile vasculoconjunctive. Gradul de dezvoltare a sistemului vascular este direct legat de intensitatea funcţiei contractile a ţesuturilor musculare respective. Ţesuturile musculare au şi un rol important în metabolismul general al organismului, deoarece ele constituie principalul rezervor de aminoacizi din organism.

Scanned with OKEN Scanner

Principalele caracteristici morfofuncţionale ale ţesuturilor musculare sînt următoarele: sînt formate din celule înconjurate de o atmosferă conjunctivo-vasculonervoasă. Celula sau fibra musculară prezintă unul sau mai mulţi nuclei după tipul de ţesut muscular, o membrană celulară numită sarcolemă şi o citoplasmă cunoscută sub numele de sarcoplasmă în interiorul căreia se găsesc prezente organitele celulare comune şi organitele celulare speciale apărute în urma diferenţierii şi adaptării celulei la funcţia de contracţie. După particularităţile structurale şi funcţionale ale fibrelor musculare se deosebesc trei tipuri de ţesut muscular:

— ţesut muscular neted (involuntar);
— ţesut muscular striat (voluntar);
— ţesut muscular cardiac (involuntar).

Histogeneza ţesuturilor musculare. Ţesutul muscular neted se dezvoltă din mezenchimul embrionar, cu excepţia muşchiului irisului din ochi şi a celulelor musculare modificate din glandele sudoripare care derivă din ectoderm. Celulele mezenchimale se diferenţiază în celule musculare tinere denumite *mioblaşti.* În faza mai avansată a dezvoltării intrauterine, mioblaştii se vor divide activ şi vor dezvolta mai departe întregul ţesut muscular. Către sfîrşitul perioadei intrauterine apar la periferia citoplasmei mioblastului primele miofibrile de aspect delicat la început, apoi se îngroaşă o dată cu formarea fibrei musculare netede. Nucleul mioblastului care era de formă rotunjită în primele etape ale dezvoltării se alungeşte şi rămîne situat în centrul fibrei. *Ţesutul muscular striat sau scheletul* îşi are originea ca şi ţesutul muscular neted în miotoamele segmentelor embrionare sau somite, ale căror celule mezenchimale se diferenţiază în mioblaşti care la început nu prezintă o structură citologică specializată. Mai tîrziu, apar miofibrilele în citoplasmă, iar după ce mioblastul se alungeşte, apar benzile clare şi întunecate la nivelul organitelor speciale. Multinuclearitatea caracteristică tipului de ţesut muscular adult se realizează fie prin fuzionarea mai multor mioblaşti într-unul singur, fie prin diviziunea nucleului existent în mioblast fără un clivaj concomitent al citoplasmei. Fibrele musculare primitive au un număr foarte redus de miofibrile striate, dar se înmulţesc numeric şi cresc în diametru în special în ultima perioadă de dezvoltare fetală şi mai ales înainte de naştere. *Ţesutul muscular cardiac* derivă din mezodermul splanhnic şi apare precoce la mamifere. În mioblaştii ce se diferenţiază apar primele fibrile în citoplasma periferică, iar nucleul rămîne în centrul celulei. Diferenţierea miofibrilelor şi apariţia striaţiilor se efectuează în mod asemănător cu al ţesutului muscular striat. Date ample în această problemă sînt aduse de studiile electronooptice ale lui Schiebler şi col. (1967, 1968).

ŢESUTUL MUSCULAR NETED

Date generale. Fibra musculară netedă este unitatea morfofuncţională a ţesutului muscular neted. Celulele musculare sînt de obicei aşezate în straturi sau benzi dense, dar pot exista în organism şi răspîndite izolat în ţesutul con-

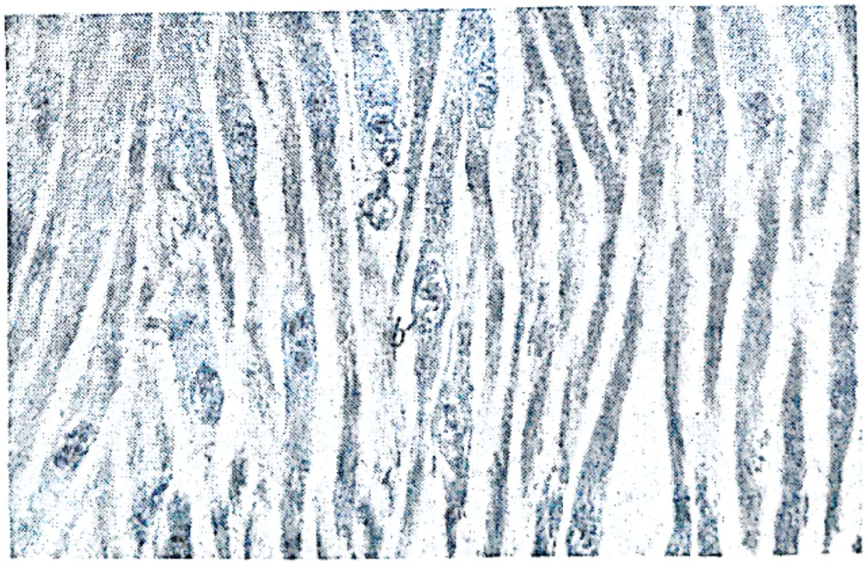
Scanned with OKEN Scanner

junctiv. La nivelul straturilor, fibrele musculare netede sînt așezate destul de ordonat, paralele una față de cealaltă, în așa fel că porțiunea mai îngroșată a unei celule vine în contact cu porțiunile înguste efilate, ale fibrelor vecine. Fibrele musculare netede constituie pături groase în intestin, mai puțin groase în arterele de tip muscular și subțiri neregulate întrerupte de țesut elastic, în aortă (figura 125).

Caractere morfologice. Fibra musculară netedă are o formă alungită — fusiformă — cu o zonă centrală mai groasă de aproximativ 4—8 microni și cu capetele ascuțite, lungimea ei fiind cuprinsă între 10 și 100 microni. Aceste dimensiuni pot varia în funcție de starea fiziologică a organului; astfel, în uterul gravid fibrele musculare netede pot ajunge pînă la 500 microni lungime și 20—25 microni grosime.

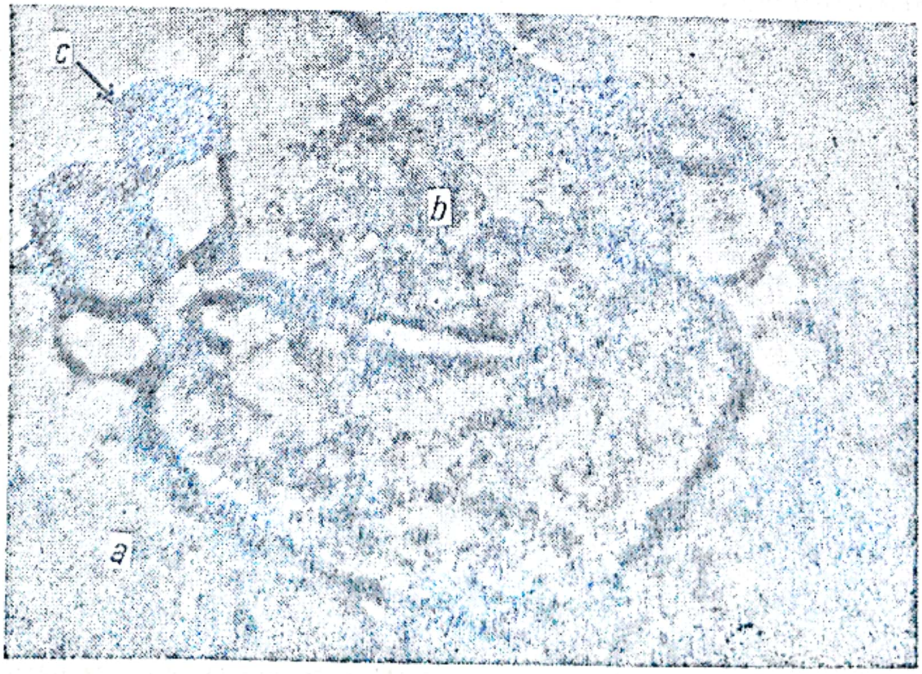
Fibra musculară netedă prezintă: citoplasmă-sarcoplasmă, un nucleu și o membrană celulară-sarcolemă. *Nucleul* este unic situat întotdeauna central. În interiorul lui pot fi observați unul sau mai mulți nucleoli. Nucleul este alungit, în formă de bastonaș. (25 microni lungime, 1 micron grosime), orientat în axul lung al fibrei. În contracție, el apare răsucit în formă de tirbușon. *Sarcoplasma* este omogenă sau fin granulară, mai abundentă în zona centrală a fibrei, în jurul nucleului unde formează fusul citoplasmic. În unii mușchi, cum sînt cei de la nivelul uterului și al anusului, ea este încărcată cu un pigment — miocromul. Sarcoplasma conține organitele comune și specifice. *Condriomul* este reprezentat prin mitocondrii (sarcozomi) care au o formă sferică, ovală sau ușor alungită și un diametru de aproximativ 0,2 microni. Mitocondriile sînt înconjurate de o membrană trilaminată externă obișnuită, iar crestele membranei interne sînt foarte proeminente. Mitocondriile sînt mai abundente la cele două capete ale nucleului fibrei musculare în timpul contracției și răspîndite în toată citoplasma cînd celula este în repaus.

Fig. 125. Mușchi neted, Col. H.E.:
a — fibră musculară netedă; b — nucleul fibrei musculare.



Reticulul endoplasmic sau reticulul sarcoplasmic este foarte slab reprezentat în fibra musculară netedă. Reticulul sarcoplasmic de tip neted este abia schiţat, fiind mai bine reprezentat reticulul endoplasmic rugos; în fibrele musculare din peretele vascular este mai abundent decît în fibrele musculare din intestin. Ribozomi liberi pot fi întîlniţi răspîndiţi în toată citoplasma. *Complexul Golgian* este mai puţin dezvoltat în fibra musculară netedă din tractul urinar şi digestiv şi mai bine reprezentat în musculatura vaselor. *Centrul celular* este redus la un diplozom situat la unul din polii nucleului. În sarcoplasmă se mai găsesc *incluziuni lipidice* sub formă de picături aşezate adeseori lîngă mitocondrii şi nucleu, *incluziuni de glicogen* sub formă de vacuole şi *granule pigmentare* (fig. 126). Organitele cele mai importante cuprinse în citoplasmă sînt *miofibrilele*. Ele sînt organite specifice fibrei musculare şi reprezintă elementul contractil. Sînt filamente subţiri cu un diametru de 0,2—0,4 microni, orientate în axul lung al celulei, mai refringente decît citoplasma. Paralele între ele, miofibrele parcurg toată lungimea fibrei musculare, dînd aspectul de striaţie longitudinală, caracteristic acesteia. Puţin numeroase în fibrele musculare mici, ele se dispun într-un singur mănunchi în citoplasmă; abundente în fibrele musculare mari, ele se grupează în fascicule de 10—20 miofibrile, formînd în sens longitudinal colonetele lui Leydig. Pe secţiune transversală aceste fascicule apar ca formaţiuni poligonale punctiforme ce poartă numele de cîmpurile lui Cohnheim. La om, în fibra musculară netedă există două tipuri de miofibrile: unele foarte fine aşezate în porţiunea centrală în endoplasmă, altele mai groase, aşezate la periferia sarcoplasmei; miofibrilele prezintă o structură complexă, fiind formate la rîndul lor din subunităţi elementare numite *miofilamente*, cu diametrul de

Fig. 126. Muşchi neted (microscopul electronic):
a — sarcoplasmă; b — nucleu; c — incluziuni lipidice.



40—150 Å. Miofilamentele nu se grupează în pachete şi nici nu prezintă periodicităţi ca în fibra musculară striată. Din punct de vedere biochimic, miofilamentele sînt formate din actină şi miozină. În fibra musculară netedă au mai fost semnalate şi alte structuri particulare care au primit denumirea de *„corpi denşi"*. Aceştia au un diametru variabil între 700 şi 4 000 Å şi sînt de obicei aşezaţi în partea externă a sarcoplasmei imediat sub sarcolemă; de multe ori par traversaţi de către miofilamente. Din punct de vedere biochimic, unii par a fi formaţi din simple proteine, alţii din proteine contractile. Ei nu sînt angajaţi activ în procesul contracţiei (fig. 127).

Sarcolema. Fibra musculară netedă este învelită de o membrană celulară (membrana plasmatică) subţire de 150 Å, care la rîndul ei este dublată la exterior de o condensare a ţesutului conjunctiv sub forma unei membrane bazale groase de 250 Å. Cele două membrane despărţite între ele printr-un spaţiu de aproximativ 100 Å constituie împreună sarcolema fibrei musculare netede. Membrana plasmatică a fibrei musculare netede prezintă pe suprafaţa ei numeroase invaginări (în număr de cel puţin 7 000 de fiecare celulă), sub forma unor buzunăraşe cu un diametru de aproximativ 600 Å, socotite a fi vezicule pinocitare destinate transportului apei şi metaboliţilor din interstiţiile fibrilare în interiorul celulei. Ele sînt mai numeroase în fibrele musculare din intestin şi mai rare în muşchiul neted al vaselor. În compoziţia chimică a sarcolemei predomină mucopolizaharidele, al căror grad de polimerizare sau de polimerizare determină viteza schimburilor între sarcoplasmă şi mediul extracelular.

Citochimie. Fibra musculară netedă conţine substanţe organice, reprezentate prin glucide, lipide, proteine în proporţii variabile, precum şi enzime legate de funcţia particulară a acestui ţesut, cum sînt: adenozintrifosfataza (ATP-aza), fosforilaza, enzimele ciclului Krebs, enzimele legate de metabolismul lipidic. Acidul adenozintrifosforic (ATP) are un rol deosebit în procesul contracţiei musculare. Ca urmare a hidrolizării lui de către ATP-aza miozinică se eliberează fosfaţi macroergici, care se fixează pe miozina din fibrile şi declanşează contracţia musculară. Miofibrilele apar sub forma unei bucle de contracţie în jurul căreia se aglomerează mitocondriile ale căror enzime vor activa refacerea acidului adenozintrifosforic, scindat enzimatic (fig. 128). Refacerea ATP are loc pe două căi:

a) calea glicolizei anaerobe care arde glucoza pînă la acid lactic; energia care rezultă este folosită pentru resinteza acidului adenozintrifosforic;

b) calea enzimatică aerobă realizată pe baza activităţii enzimelor mitocondriale (ciclul Krebs).

Fibrele musculare netede au o contracţie lentă nesupusă voinţei. Contracţia se traduce histologic printr-o scurtare a fibrei, care provoacă în acelaşi timp şi modificări de formă a nucleilor.

Varietăţi de fibre musculare netede. În organism distingem mai multe tipuri de fibre musculare netede:

— Fibre largi şi lungi dispuse în pături la nivelul tunicilor musculare ale tubului digestiv.

Scanned with OKEN Scanner

Fig. 127. Mușchi neted:
C — corpi denși; M — mitocondrii; N — nucleu.

Scanned with OKEN Scanner

— Fibre rămoase care se întîlnesc mai ales în tunicile vaselor (artere) de tip elastic, aceste fibre sînt scurte, aplatisate cu un corp celular ce prezintă un contur poligonal neregulat și cu rare prelungiri ce se pot bifurca uneori. Nucleul este mic, ovoid situat central, miofibrilele merg de la o extremitate la alta a corpului celular, fiind orientate mai mult sau mai puțin oblic.

— În uterul gravid găsim fibre musculare netede sub forma unor adevărate *pangliei* lungi de aproximativ 500 microni și groase de 25 microni.

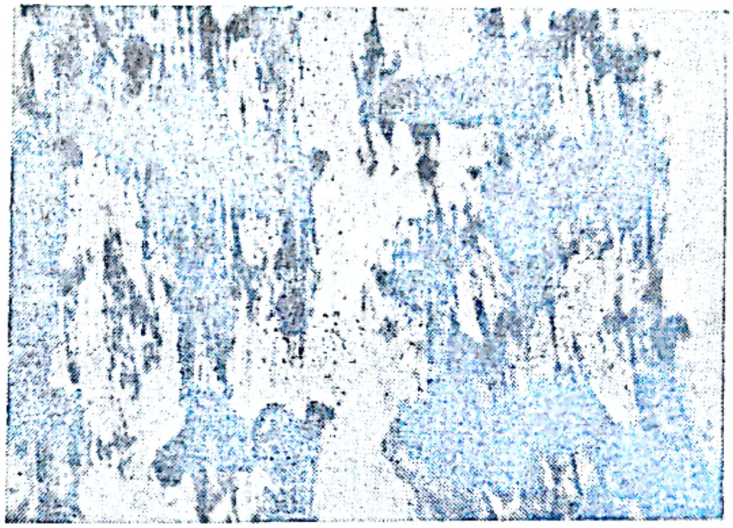


Fig. 128. Adenozintrifosfataza (ATP-aza) localizată la nivelul buclelor de contracție ale fibrei musculare netede.

— Celulele nodale ale țesutului muscular neted sînt celule musculare netede relativ puțin diferențiate, cu citoplasma abundentă în raport cu numărul miofibrilelor, se găsesc în straturile musculare ale intestinului, uterului, ureterului. Aceste celule au un automatism asemănător cu al celulelor nodale din cord. Sub influența distensiei pasive, ele intră în contracție, determinînd scurtarea contractilă a fibrelor netede obișnuite.

Rapoartele fibrelor musculare între ele. Fibrele musculare netede sînt cuprinse într-o teacă de origine colagenă, întărită prin fibrile elastice care unesc diferitele fascicule de fibre netede între ele.

Vascularizația țesutului muscular neted este dată de o rețea capilară cu ochiuri largi dispusă între fasciculele musculare. Această rețea interpusă între arteriolă și venulă este foarte dezvoltată în pătura circulară a intestinului. Vasele limfatice sînt reduse la un sistem de fine traiecte anastomozate, totdeauna localizate în țesutul conjunctiv interfascicular.

Inervația este dată de sistemul nervos vegetativ (autonom); se întîlnesc fibre nervoase mielinice simpatice și parasimpatice care formează fie terminații nervoase libere varicoase aplicate pe suprafața fibrei musculare netede ca, de exemplu, la pereții vasului; fie ca în intestin sau vezică, plexuri nervoase ganglionare de la care se detașează fibre terminale ce se pun în relație cu celule speciale, celule interstițiale ale lui C a j a l, B e r k e l y ale căror prelungiri ramificate alunecă la suprafața fibrelor musculare netede.

Regenerarea țesutului muscular neted se face, de obicei, pe seama țesutului conjunctiv. În cazul unei pierderi de substanță musculară ca, de exemplu, în ulcerul duodenal, țesutul muscular nu se mai reface, ci se formează o cicatrice prin proliferarea țesutului conjunctiv.

ŢESUTUL MUSCULAR STRIAT

Date generale. Ţesutul muscular striat reprezintă 40% din greutatea corpului, formînd în mare majoritate muşchii scheletali. Sînt muşchi voluntari la nivelul cărora se desfăşoară contracţii puternice; ei se pot menţine în stări prelungite de contracţie, denumite stări de tonus. Muşchii scheletali sînt formaţi din fibre musculare striate, care reprezintă elementele fundamentale ale ţesutului muscular striat. Fibrele musculare striate mai complicate ca structură decît fibrele musculare netede sînt formaţiuni supracelulare diferenţiate ca atare încă din cursul dezvoltării embrionare.

Caractere morfologice. Fibra musculară striată are o formă alungită cilindrică sau prismatică cu extremităţi ovoide, uneori ramificate. Dimensiunea fibrei musculare striate este cuprinsă între 3—12 cm lungime şi 20—100 microni grosime. În interiorul ei se găsesc *mai mulţi nuclei*, numărul lor variind de la o fibră la alta în raport cu lungimea ei şi cu organul în care se găseşte fibra musculară striată. În general se găsesc un număr de 30—40 nuclei pe cm lungime. Nucleii au o formă ovoidă cu dimensiuni de 10 microni/5 microni. La om ocupă o situaţie periferică în celulă, imediat sub sarcolemă, fiind înconjuraţi de o zonă de citoplasmă mai puţin omogenă, în comparaţie cu restul sarcoplasmei.

Citoplasma-sarcoplasma este acidofilă cu un aspect fluid în centrul fibrei, mai densă şi mai abundentă spre periferia celulei. Fibrele musculare mai bogate în sarcoplasmă au un aspect mai întunecat în stare proaspătă, în timp ce fibrele cu sarcoplasmă mai puţină apar clare. Sarcoplasma conţine organite celulare de ordin general şi elementele specifice ţesutului muscular miofibrilele.

Mitocondriile-sarcozomii sînt de mărimi variabile: unii de talie mică de formă ovalară, cu un diametru de 0,1—0,2 microni aşezaţi, de obicei, în vecinătatea liniei Z, alţii de talie mai mare, de formă alungită, aşezaţi dezordonat printre miofibrile şi condensaţi în jurul nucleului. Ei posedă un bogat echipament enzimatic, destinat furnizării energiei necesare pentru declanşarea fenomenului de contracţie.

Complexul golgian este puţin dezvoltat şi aşezat la unul sau la ambii poli ai celulei. *Lizozomii* sînt prezenţi în fibra musculară striată. Unele maladii distrofice ale ţesutului muscular par a fi datorite după ultimele cercetări lezării membranei lizozomale şi eliberării conţinutului lor enzimatic acid în celulă (hidrolazele acide pe care aceste organite le conţin).

Reticulul sarcoplasmic este reprezentat în fibra musculară striată printr-o reţea de tubuli ce înconjură fiecare miofibrilă; cei mai mulţi dintre ei au o direcţie longitudinală în fibră, paralelă cu axul lung al miofibrilei. Această reţea a primit denumirea de *sistem sarcoplasmic longitudinal* sau sistemul L. În afară de acesta, în fibra musculară striată există şi un al doilea sistem de tubuli, denumit *sistemul transvers sau sistemul T*. Acesta este alcătuit din tubuli aşezaţi transversal faţă de lungimea fibrei musculare striate, perpendicular pe sistemul longitudinal. Tubulii sistemului transvers par să aibă continuitate cu sarcolema şi după ultimele cercetări de microscopie electronică nu ar fi altceva decît o

Scanned with OKEN Scanner

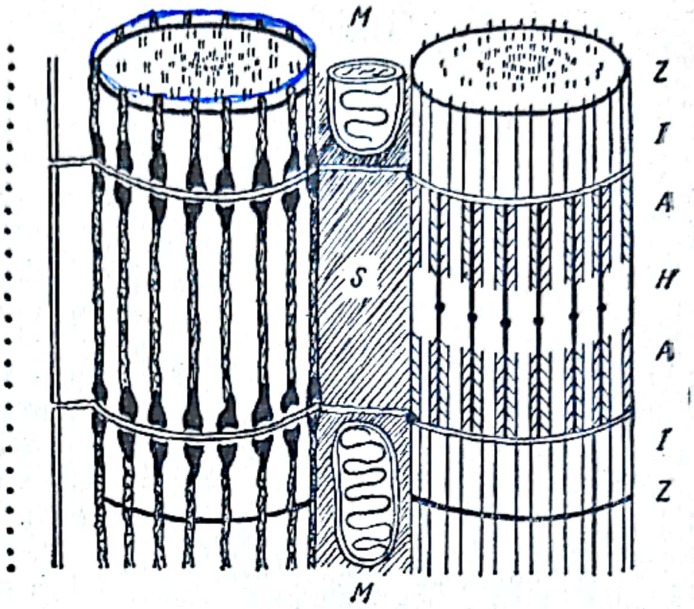


Fig. 129. Sistemul sarco-tubular (după Bendall).

invaginare a sarcolemei în dreptul membranei Z din fibra musculară striată. Tubulul rezultat din această invaginare urmăreşte în interiorul fibrei traiectul liniei Z, străbătînd transversal fibra musculară. În felul acesta în dreptul fiecărei miofibrile, sistemul T întîlneşte şi vine în contact cu sacii terminali ai reticulului sarcoplasmic longitudinal, alcătuind împreună o formaţiune numită triadă. Această formaţiune este alcătuită din doi saci terminali ai sistemului L şi un tubul al sistemului T. Între aceste două sisteme nu există continuitate, ci numai apropiere. Reticulul sarcoplasmic în totalitate, dar mai ales sistemul T joacă un rol important în fenomenul de contracţie (fig. 129). La nivelul sistemului T, datorită prezenţei unei mai mari cantităţi de *ioni de calciu*, se realizează cuplarea excitaţiei cu contracţia. În momentul declanşării contracţiei se produce o depolarizare a sarcolemei, creşte schimbul de calciu între mediul intra- şi extracelular, ionii de calciu determină contracţia musculară fie prin acţiunea lor directă asupra proteinelor contractile, fie prin inactivarea factorului de relaxare a lui Marsh. În afară de ionii de calciu, fibra musculară striată conţine în proporţie ridicată şi alţi ioni, ca cei de potasiu, cu rol asemănător primilor în procesul contracţiei musculare, dar de o eficienţă mai scăzută. Potasiul intracelular este important în metabolismul muscular. O cantitate mare de ioni de potasiu este încorporată în fibra musculară în momentul în care în celulă se depozitează glicogen sau au loc procese intense de sinteză. În concentraţii mari ionii de potasiu inhibă contracţia musculară indirect prin inhibarea acţiunii ionilor de calciu. În felul acesta se explică şi fenomenele de adinamie observate în unele sindroame patologice care sînt întovărăşite de hiperpotasemie.

Elementele cele mai importante cuprinse în sarcoplasmă sînt *miofibrilele*. Ele reprezintă elementul contractil al fibrelor musculare şi sînt socotite diferenţieri ale citoplasmei. Se dispun paralel între ele şi se asociază în număr de

Scanned with OKEN Scanner

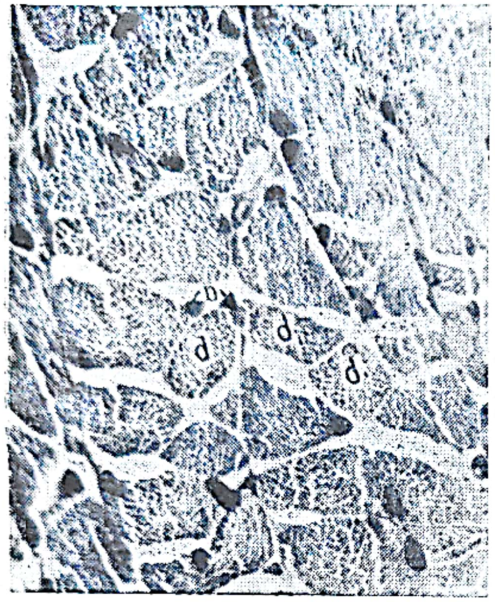


Fig. 130. Muşchi striat secţiune transversală:
a — nucleii fibrelor musculare striate; b — cîmpurile Conheim.

Fig. 131. Muşchi striat, secţiune longitudinală:
a — nucleu; b — discuri clare (discuri I); c — discuri întunecate (discuri A).

30—50 miofibrile în fascicule, constituind colonetele lui Leydig în lungimea fibrei musculare striate. În secţiune transversală aceste fascicule apar sub formă de arii poligonale fin punctate, denumite cîmpurile lui Cohnheim (fig. 130). Numărul de miofibrile este variabil de la o fibră musculară striată la alta. Miofibrilele au o constituţie eterogenă, de-a lungul lor se pot observa alternanţe de discuri clare şi întunecate (fig. 131). Discurile sau benzile clare sînt izotrope (monorefringente — nu polarizează lamina), fapt pentru care au fost denumite discuri I. Ele sînt greu colorabile. Discurile sau benzile întunecate sînt anizotrope (birefringente — polarizează parţial lumina), fiind denumite discuri A. Ele sînt slab colorabile. Diferenţa între cele două aspecte este dată de constituenţii chimici diferiţi de la nivelul lor. Datorită faptului că cele două feluri de discuri de aspect diferit sînt situate la acelaşi nivel în toate miofibrilele, se realizează aspectul striat transversal pe care îl prezintă toate fibrele musculare striate. Discurile sau benzile clare, care apar luminoase la microscopul obişnuit, sînt străbătute în mijlocul lor de o membrană întunecată, numită membrana Z (*Zwischenscheibe*) sau stria Amici. Aceasta se continuă cu membranele Z din miofibrilele vecine, realizînd o inofragmă transversală continuă în fibra musculară striată ce pare să se insere pe sarcolemă prin cele două capete terminale. În fibrele musculare striate cu mare activitate funcţională apare în plus în discul I o membrană accesorie subţire numită membrana N (*Nebenscheibe*) în fiecare din cele două semidiscuri izotrope care se găsesc de o parte şi de alta a membranei Amici. Discurile sau benzile întunecate sînt străbătute prin mijlocul lor de o bandă clară numită stria Hensen = zona H. Prin mijlocul

acestei zone, în unele categorii de fibre musculare striate foarte diferențiate, trece o membrană îngustă și întunecată, numită membrana M (*Mittelscheibe*). Segmentul cuprins între două membrane Z sau strii a lui Amici poartă numele de *sarcomer=căsuța lui Krause*, cu o lungime de 2,5—3 microni. Sarcomerul este considerat unitatea elementară morfofuncțională a fibrelor musculare striate. El apare format din:

— 1/2 disc clar,

— 1 disc întunecat cu zona H și membrana M,

— 1/2 disc clar.

La microscopul electronic, miofibrilele apar constituite din formațiuni mai mici care poartă denumirea de miofilamente sau fibrile elementare, care constituie de fapt unitatea ultrastructurală și funcțională a miofibrilei (fig. 132). Miofilamentele sînt groase de 50—150 Å și dispuse paralel față de lungimea fibrei, în număr de cîteva zeci pînă la o sută de fiecare miofibrilă. Se deosebesc două tipuri de miofilamente: unele subțiri de 40—50 Å grosime, de aspect neted, formate din actină, prezente în tot lungul miofibrilei, atît în discul I cît și în discul A. Lipsesc numai la nivelul zonei H. Altele groase de 50—150 Å, scurte, formate din miozină, sînt prezente numai în discurile întunecate (intercalate cu miofilamentele subțiri) și în zona H (fig. 133). Aceste miofilamente sunt zimțate sau de aspect solzos, datorită unor mici spini de 20—

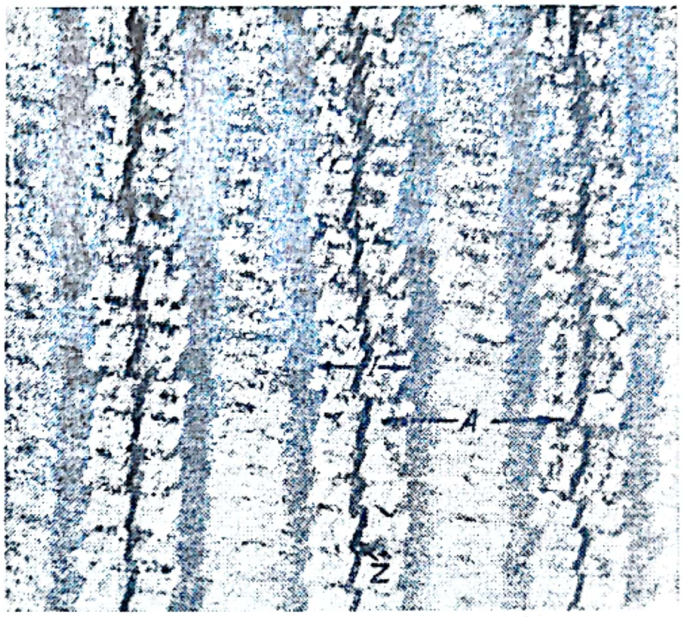
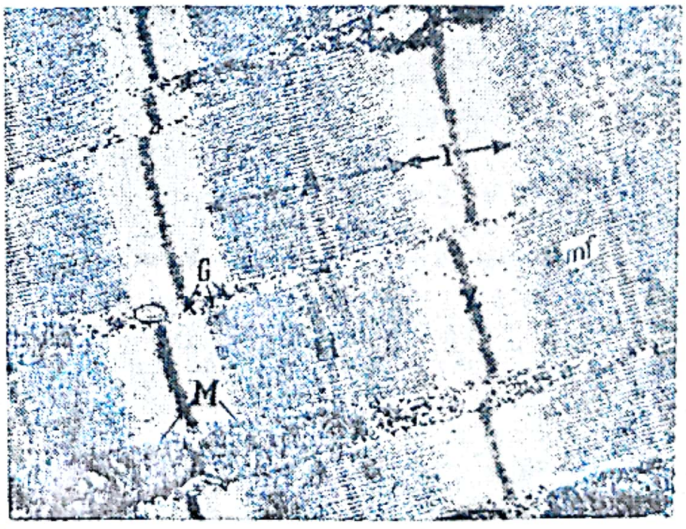


Fig. 132. Mușchi striat (microscopul electronic): I — discurile clare; Z — membrana Z; A — discurile întunecate.

Fig. 133. Mușchi striat (microscopul electronic:) I — discurile clare; G — glicogen; Z membrana Z; A — discurile întunecate; H — stria Hensen; mf — miofilamente; M — mitocondrie.



Scanned with OKEN Scanner

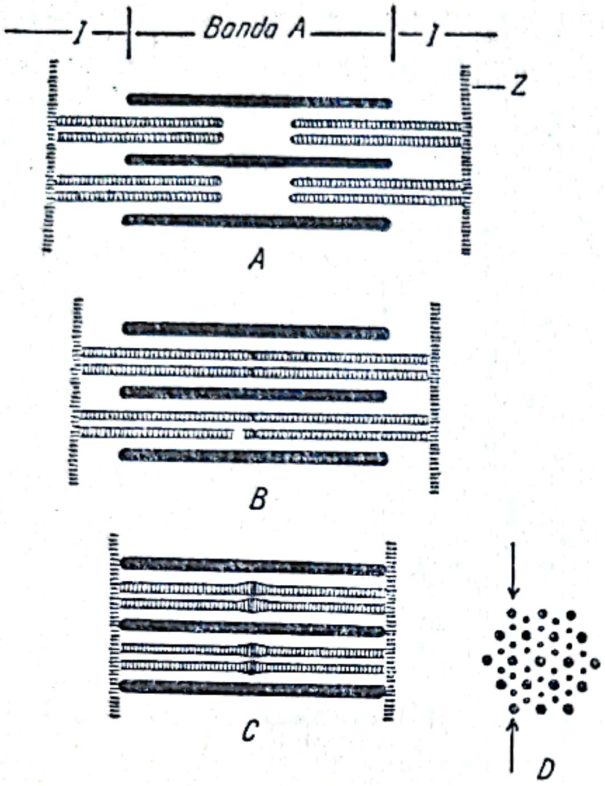


Fig. 134. Modificările muşchiului scheletal în timpul contracţiei (după Copenhaver).

30 Å lungime aşezaţi pe suprafaţa lor. Distribuţia miofilamentelor poate fi mai bine observată pe secţiune transversală; în banda clară se observă numai filamente subţiri, iar în banda întunecată se văd ambele tipuri de miofilamente, cu excepţia zonei H, unde nu sînt decît miofilamente groase. Cele două tipuri de miofilamente au o aşezare precisă în banda A într-un aranjament hexagonal cu un miofilament gros în centru, înconjurat de şase miofilamente subţiri. Acestea din urmă apar situate în unghiurile hexagonului.

Miofibrilele sînt alcătuite din proteine cu structuri fibrilare, aşa numitele proteine contractile. Dintre acestea cele mai importante sînt miozina, actina, tropomiozina şi factorul de relaxare.

Miozina este o proteină cu greutate moleculară mare, cu o structură filamentoasă. Dimensiunile ei sînt cuprinse între 50—100 Å lungime şi 20 Å grosime. Este localizată în discul A al miofibrilelor şi prezintă o activitate enzimatică de tipul ATP-azei. Miozina poate astfel scinda acidul adenozintrifosforic prin hidroliză, generînd fosfaţi macroergici cu eliberare de trofosforic prin hidroliză, generînd fosfaţi macroergicoi cu eliberare de energie.

Actina este localizată în discul I şi A (în afara benzii H), fiind formată din macromolecule cu greutate moleculară mai mică şi se prezintă sub două aspacte: actina G (globuloasă) formată din macromolecule globuloase capabile să se polimerizeze în lanţuri lungi filamentoase; actina F (filamentoasă) formată din macromolecule filamentoase rezultate din polimerizarea actinei; actina nu posedă activitate enzimatică.

În miofibrile cele două proteine — actina şi miozina — pot fi şi unite sub formă de *actomiozină* care este socotită de fapt proteina contractilă a miofibrilei. Într-o moleculă de actomiozină, miozina intră în proporţie de 25%. Complexul actomiozină prezintă activitate ATP-azică mai intensă decît a miozinei simple, acţionînd asupra ATP-ului. Din scindarea acidului ATP rezultă o cantitate mare de energie (11 000 de calorii pentru fiecare moleculă de fosfat), care va fi folosită în procesul contracţiei musculare.

Tropomiozina localizată în banda I şi în membrana Z cu proprietăţi mai puţin cunoscute. Pare să desfăşoare o activitate enzimatică dependentă de ionii de Mg^{++}.

Factorul de relaxare al lui Marsh, proteină contractilă cu caracteristici foarte puţin cunoscute pînă în prezent.

Scanned with OKEN Scanner

În afară de proteinele contractile (miozină, actomiozină etc.), mușchiul mai conține și proteine necontractile, ca: globulina, cu o greutate moleculară de aproximativ 160 000; *miogenul* care pare a avea proprietăți enzimatice; *mioglobina* este o proteină conjugată denumită hemoglobină musculară, deoarece ca și aceasta, funcționează ca transportor de oxigen în fibra musculară. Greutatea moleculară a mioglobinei este 1/4 din cea a hemoglobinei. În tulburări metabolice musculare, mioglobina apare în urină. Ea poate precipita în tubii renali, determinînd obstrucția lor și anuria.

Sarcolema apare formată din trei straturi la microscopul electronic: citolema groasă de 50—150 Å este foița cea mai internă; ea este de fapt o condensare a sarcoplasmei periferice. La nivelul ei se pot observa numeroase imagini de pinocitoză și pe alocuri comunicări ale reticulului sarcoplasmic cu exteriorul.

— Un spațiu liber de 200—500 Å.

— Un strat extern gros de 0,1 microni, care conține substanțe mucopolizaharidice. La nivelul lui se întîlnește o bogată rețea de fibre de reticulină și rare fibre elastice. Ea este socotită membrana bazală a sarcolemei.

Modificări morfologice în contracția fibrei. Contracția se manifestă printr-o scurtare a miofibrilelor, fiecare sarcomer devenind mai scurt și mai gros. Scurtarea sarcomerului se face, în special, pe seama discului I, care poate chiar dispărea în contracții repetate des, fără interval de repaus între ele. Dispare, de asemenea, și zona H, în timp ce lungimea discului A rămîne relativ constantă în contracție. Discul A se scurtează numai în cazurile unor contracții extrem de puternice. Scurtarea fibrei musculare prin contracție este explicată de H u x l e y prin ipoteza mecanismului glisării (alunecării) (fig. 134). Huxley admite că miofibrila este constituită din două tipuri de filamente și deci contracția ar fi datorită alunecării filamentelor de actină printre filamentele de miozină. În felul acesta filamentele de actină sînt împinse în discul A. Un alt grup de cercetători explică contracția prin formarea la nivelul miofilamentelor a unor pliuri și bucle ce conduc la scurtarea fibrei musculare. În acest sens, cercetări ale laboratorului de histologie din București au demonstrat pe baza reacției histochimice pentru ATP-ază actomiozinică existența acestor bucle ale miofilamentelor, în timpul contracției fibrelor musculare. Această modalitate de efectuare a contracției are loc, în special, în fibrele musculare netede, în care nu sînt prezente de cele mai multe ori decît un singur tip de miofilamente. Există însă posibilitatea ca în fenomenul contracției musculare să existe însumate cele două aspecte semnalate (de glisare și de buclare).

Modificările activității biochimice a miofilamentelor în contracția musculară se produc în complexul actomiozinic — ATP. Cînd fibra musculară primește stimulul nervos, se produce o modificare a balanței electroliților de-a lungul sarcolemei. De la aceasta reticulul endoplasmic transmite rapid impulsul la miofibrile a căror proteine contractile (miozina, actomiozina) absorb ATP-ul și unii cationi (K^+, Mg^{++}). ATP-ul sub acțiunea ATP-azei este hidrolizat, eliberînd de fiecare moleculă cîte doi fosfați macroergici și o cantitate mare de energie. În cadrul teoriei glisării se consideră că în cursul unei scur-

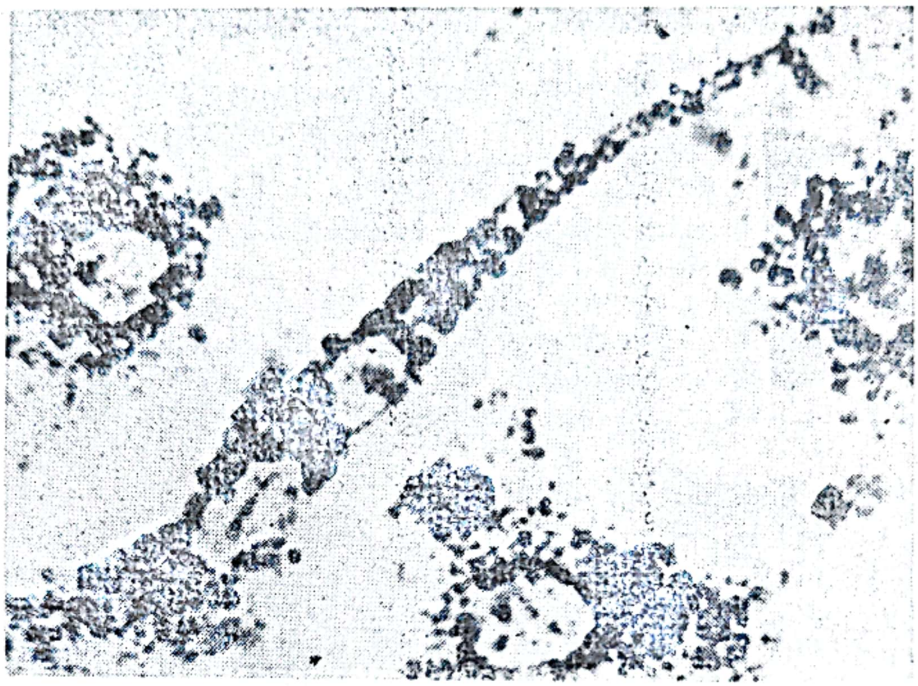


Fig. 135. Mioblaşti. Succindehidrogenaza.

tări a sarcomerului, prin întrepătrunderea filamentelor, este eliberat un grup de fosfat. Cînd se opreşte eliberarea grupelor fosfat din ATP, încetează glisarea actinei pe miozină şi muşchiul intră în repaus. Refacerea ATP-ului necesită energie chimică, care este furnizată pe două căi: calea glicolitică anaerobă prin arderea glicogenului; calea enzimatică aerobă pe baza activităţii enzimelor mitocondriale. Enzimele ciclului Krebs, localizate în aceste organite, joacă un rol important în formarea şi menţinerea la un anumit nivel a ATP-ului celular.

Constituţia chimică a ţesutului muscular este reprezentată prin apă, săruri minerale şi substanţe organice (glucide, grăsimi şi proteine). Apa este în proporţie de 70—75%. Jumătate din apa organismului este reţinută în fibrele musculare striate, care pot fi considerate astfel ca un rezervor de apă pentru corpul omenesc. Sărurile minerale sînt reprezentate, în special, prin ionii de calciu (în cantitate destul de ridicată), sodiu şi magneziu. Glucidele reprezintă substanţele cele mai importante pentru ţesutul muscular, în vederea procurării energiei necesare declanşării contracţiei. Ele sînt reprezentate prin glicogen şi glucoză situate în sarcoplasmă. Grăsimile se găsesc în muşchi sub formă de incluzii lipidice, cel mai des ele sînt legate într-un complex cu substanţele proteice. Din cauză că în mod obişnuit nu pot fi puse uşor în evidenţă, se mai numesc şi lipide mascate.

Proteinele musculare constituie un rezervor important de aminoacizi pentru organism, aşa cum ficatul este rezervor de hidraţi de carbon, ţesutul osos rezervor de săruri minerale, ţesutul gras pentru lipide şi ţesutul limfatic pentru nucleoproteine.

Scanned with OKEN Scanner

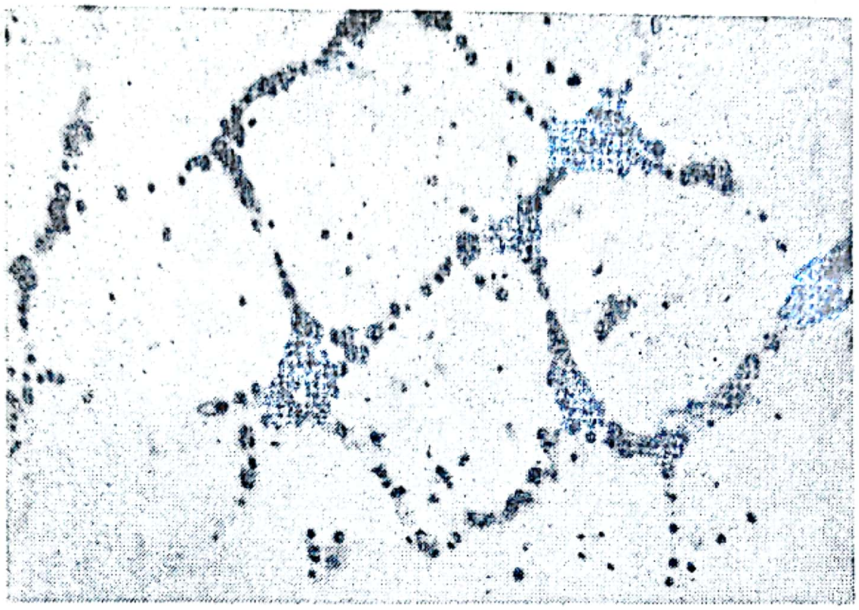


Fig. 136. Mușchi striat. Uridindifosfoglucuronic acid epimeraza intensă în perimisium.

Constituția enzimatică a țesutului muscular striat. Cercetări histoenzimologice efectuate la Catedra de histologie din București, pe diferite tipuri de țesut muscular au stabilit variații ale echipamentului enzimatic ale acestora, care a permis stabilirea tipului metabolic pentru fiecare categorie musculară în parte. *Mioblaștii* prezintă activități metabolice deosebit de intense. Acestea sînt exprimate printr-un larg spectru enzimatic în care sînt preponderente procesele enzimatice aerobe (fig. 135). Țesutul muscular striat prezintă două aspecte metabolice: a) *mușchiul striat roșu*, care se aseamănă cu miocardul, la nivelul lui predominînd enzimele aerobe ale ciclului Krebs și diaforazele asupra enzimelor anaerobe; b) *mușchiul striat alb* este, de asemenea, bogat în enzime, dar la nivelul lui predomină glicoliza anaerobă și enzimele șuntului pentozic. Ambele categorii de fibre musculare striate prezintă o bogată activitate ATP-azică.

Rapoartele fibrelor musculare în mușchiul striat. Fibrele musculare striate se grupează în pachete de 20—50 fibre unite printr-o rețea fină fibrilară. Fiecare pachet constituie un fascicul primar înconjurat de un țesut conjunctiv ce poartă numele de *endomisiun*. Mai multe fascicule primare se grupează în fascicule secundare, înconjurate de țesut conjunctiv asociat cu fibre elastice ce poartă numele de *perimisium*. Fasciculele secundare se grupează în fascicule terțiare sau cuaternare ce formează de fapt mușchiul, propriu-zis și care este învelit de o aponevroză numită *epimisium*. În celulele conjunctive din perimisium și endomisium se poate observa o bogată activitate epimerazică care metabolizează hexozele conjugate cu acizii uronici (fig. 136).

Mușchii striați pot fi împărțiți în două categorii: *mușchi roșii și mușchi albi*. Mușchii roșii sau mușchii cu contracție „lentă" sînt mai bogați în sarcoplasmă, conțin mai multă mioglobină, au striațiile mai puțin evidente, răspund mai

Scanned with OKEN Scanner

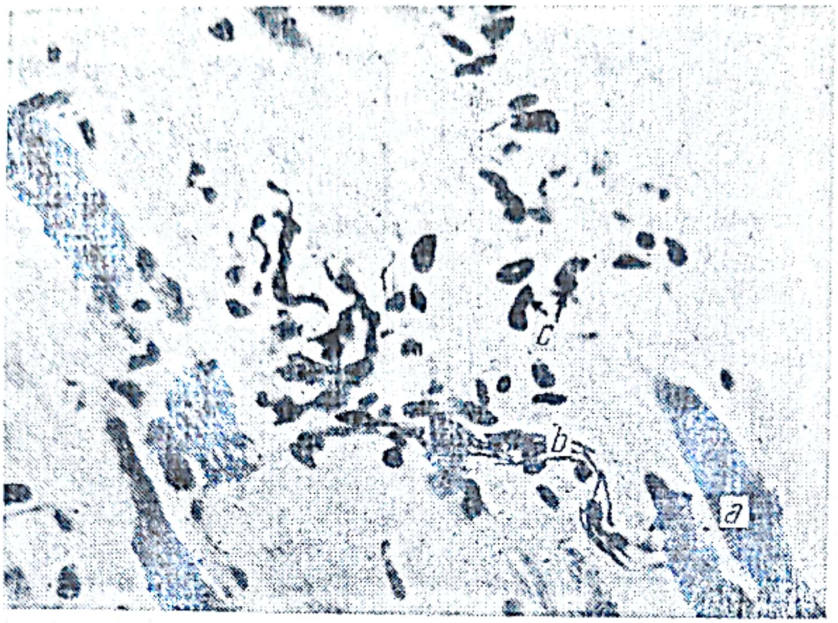


Fig. 137. Placa motorie — impregnare argentică:
a — fibra musculară striată; b — fibre nervoase; c — nuclei.

lent la stimuli şi au o perioadă de latenţă mai lungă decît muşchii albi. Ei sînt adaptaţi pentru contracţia de lungă durată. Muşchii albi sînt muşchi contracţia bruscă şi „rapidă", au puţină sarcoplasmă şi un număr mare de miofibrile (de exemplu, muşchii externi ai globului ocular).

Legătura dintre muşchi şi tendon. În această problemă există două ipoteze. *Ipoteza continuităţii.* Adepţii acestei ipoteze afirmă că la nivelul legăturii dintre tendon şi muşchi, miofibrilele se continuă cu fibrele colagene tendinoase. La acest nivel, sarcoplasma devine mai abundentă, nucleii se înmulţesc, iar miofibrilele se transformă treptat în fibrile tendinoase. Deci o continuitate fără interpunerea sarcolemei. *Ipoteza contiguităţii.* Adepţii acestei ipoteze afirmă că între miofibrile şi fibrele tendinoase există numai o legătură de contact şi nu una de continuitate. Pe baza datelor moderne se poate spune că legătura pare să fie o *legătură chimică funcţional activă.* La nivelul legăturii cu tendonul s-a evidenţiat colinesteraza, enzimă legată de hidroliza acetilcolinei, ceea ce înseamnă că există în aceste zone activităţi metabolice intense.

Vascularizaţia este foarte abundentă în raport cu cea descrisă la muşchii netezi, pentru a se putea face faţă procesului metabolic foarte intens, care are loc în muşchii striaţi. Muşchii striaţi consumă mult oxigen pe care-l iau din sînge. Circulaţia sîngelui în muşchii striaţi este organizată în reţele de capilare legate între ele prin anastomoze scurte şi largi astfel ca circulaţia să nu fie împiedicată în timpul activităţii musculare. Capilarele din muşchi au un diametru foarte mic care se măreşte în raport cu intensitatea activităţii musculare. Majoritatea capilarelor sînt închise, ele se deschid alter-

Scanned with OKEN Scanner

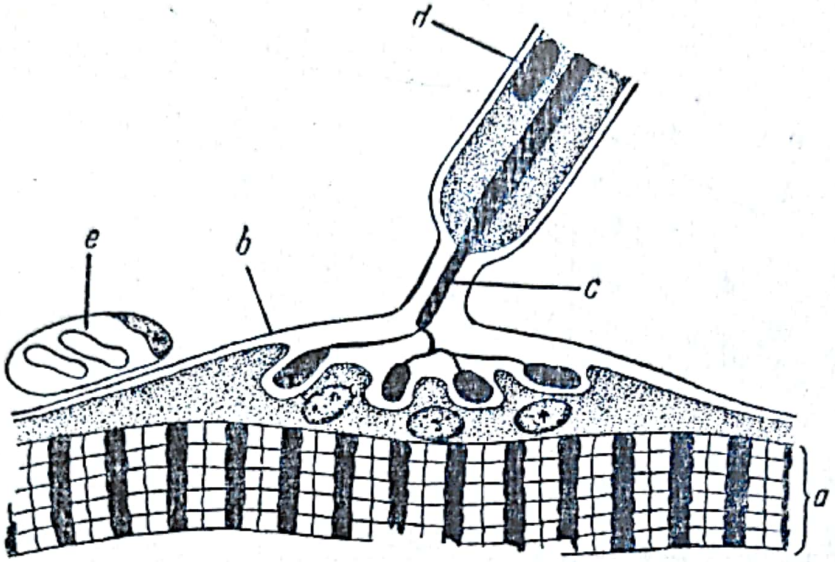


Fig. 138. Placă motorie:
a — fibră musculară striată; b — sarcolemă; c — axon; d — nucleii celulei Schwann; e — capilar sanguin.

nativ pe zone. Afluența sîngelui în mușchi se realizează prin creșterea debitului de sînge, prin deschiderea de noi capilare și prin dilatarea lor.

Inervația. Mușchii striați, contrar mușchilor netezi, sînt foarte bogat inervați. Unul sau mai mulți nervi cerebrospinali, abordînd mușchiul, se despart în ramuri ce pătrund în septurile interfasciculare. Fibrele nervoase sînt motorii și destinate fasciculelor musculare, unde se termină prin formațiuni speciale ce poartă denumirea de plăci motorii (fig. 137). Placa motorie reprezintă o regiune specializată a sarcolemei, fiind socotită joncțiunea neuromusculară sau neuromială. În momentul în care fibra nervoasă intră în placa motorie, își pierde teaca de mielină. Teaca lui Henle se continuă în endomisium, iar teaca lui Schwann învelește ramificațiile axonului terminal și se continuă cu sarcolema fibrei musculare striate (fig. 138). Axonul dă naștere în partea sa terminală la un număr variabil de arborizații sinuoase sau monofiliforme ce trec înspre fibra musculară, fiind situate în spațiul clar dintre cele două foițe ale sarcolemei (membrana plasmică și sarcolema propriu-zisă, fig. 139). În dreptul acestor terminații axonale butonate sau efilate, fibra musculară striată se modifică. Sarcoplasma apare mai abundentă, este de aspect granular și conține mulți nuclei și mitocondrii. Miofibrilele lipsesc la acest nivel, fiind împinse înspre centrul fibrei. Membrana plasmatică a fibrei musculare striate este foarte sinuoasă, determinînd numeroase invaginări așezate palisadic în care se înfundă ramificațiile axonale. Transmisia stimulului nervos de la fibra nervoasă la fibra musculară se realizează la fel ca în oricare sinapsă nervoasă. Stimulul nervos ajuns la capătul fibrei nervoase eliberează acetilcolină, care crește permeabilitatea membranei

Scanned with OKEN Scanner

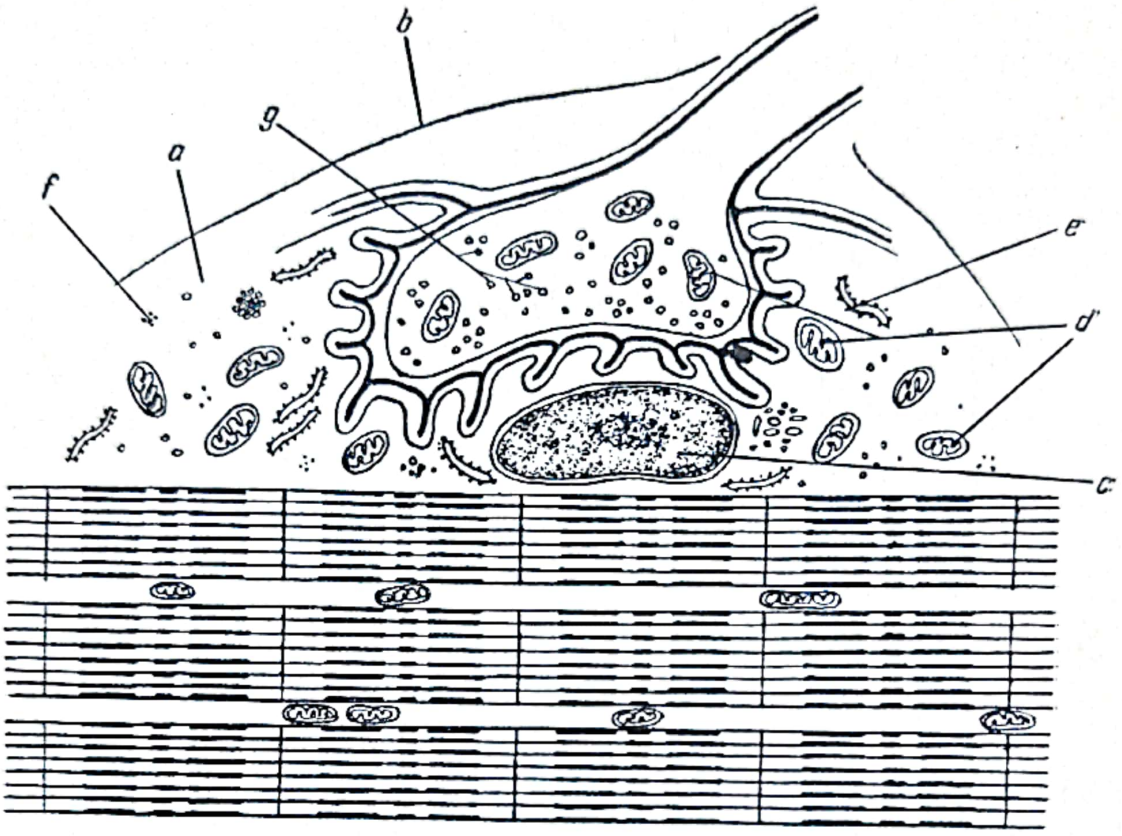


Fig. 139. Placă motorie (microscopul electronic):
a — sarcoplasma; b — sarcolema; c — nucleul fibrei musculare striate; d — mitocondrii; e — reticul endoplasmatic rugos; f — ribozomi; g — vezicule sinaptice.

la Na^+. Fluxul de Na^+ produce un potenţial de depolarizare denumit potenţial al plăcii motorii. Curentul creat prin acest potenţial depolarizează membrana plasmatică a fibrei musculare întîi în jurul plăcii motorii, apoi se propagă de-a lungul întregii sarcoleme cu declanşarea ulterioară a contracţiei.

Receptorii musculari. Aproximativ 40% din fibrele nervoase destinate muşchiului sînt fibre nervoase cu rol senzitiv. Se descriu în muşchi trei tipuri de receptori senzitivi.

— *Fibrele intrafuzale* reprezentate prin grupuri de 2—10 fibre musculare situate în ţesutul conjunctiv capsular. Fibrele intrafuzale constituie unităţile contractile regulate ale muşchiului, sînt paralele cu celelalte fibre musculare, capetele lor se prind pe tendon sau pe capetele fibrelor extrafuzale (fig. 140). Ele au un caracter mai embrionar, deoarece conţin mai puţine striaţii decît fibrele extrafuzale. Capetele fibrelor intrafuzale sînt contractile, zona mijlocie este zona nucleilor necontractilă, lipsită de striaţii. În această zonă cu mulţi nuclei sînt localizate terminaţiile nervoase anulospirale. Ele înconjură ca într-o plasă fibra intrafuzală şi sînt socotite ca terminaţii receptoare pentru extensia musculară. În afară de terminaţiile nervoase anulospirale, se întîlnesc la nivelul porţiunii mijlocii a fibrelor intrafuzale şi terminaţii nervoase mult

ramificate în tufă (florale), provenind de la fibre nervoase cu diametru de 6—9 microni.

Activitatea lor duce la creşterea activităţii neuronului motor flexor şi a descreşterii celui extensor. Fibrele intrafusale au şi ele un nerv motor cu un diametru de 3—7 microni, care se termină prin două plăci motorii situate la capetele fibrei. Aceste fibre motorii sînt numite fibre aferente gamma, ale lui Leksell sau sistemul nervilor motori mici.

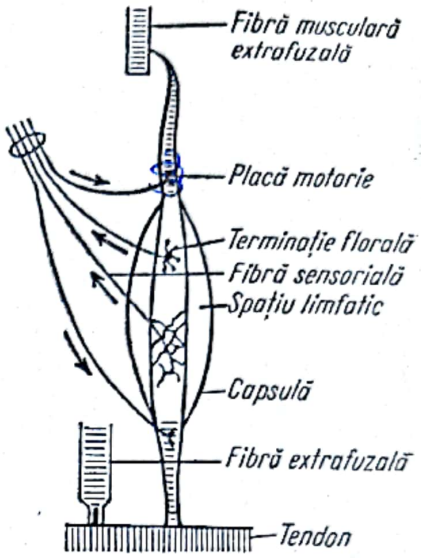


Fig. 140. Fibră intrafuzală.

— *Organul golgi* din tendon este format dintr-un număr mare de terminaţii nervoase butonate ce vin de la măduva spinării. Ele inhibă contracţia declanşată de fibrele intrafusale. Cînd tensiunea exercitată de fibra musculară asupra tendonului este prea exagerată, este inhibată automat contracţia musculară (fig. 141).

— *Terminaţiile nervoase libere* sînt de cele mai multe ori asociate cu vasele sanguine. Acestea sînt responsabile de declanşarea durerii musculare prin palparea puternică a masei musculare sau prin presarea tendonului.

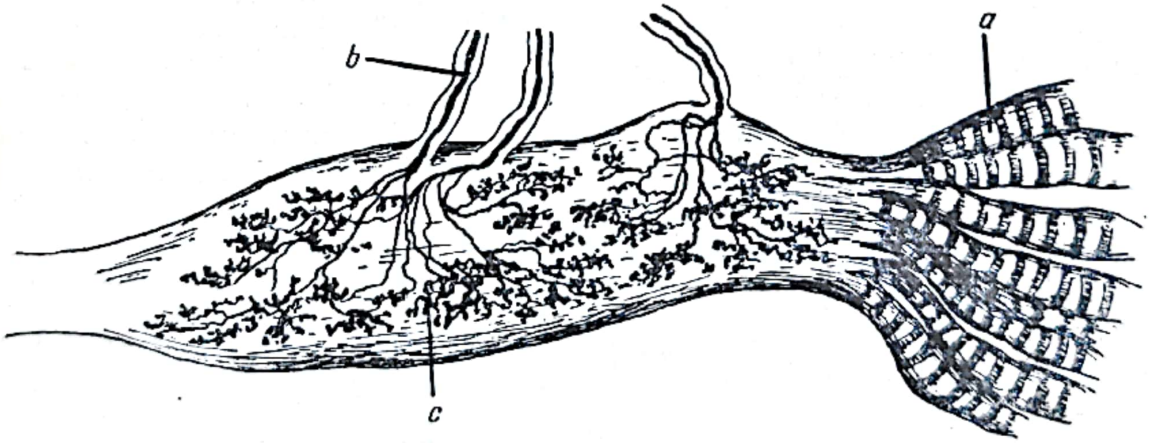


Fig. 141. Aparat Golgi în tendon:
a — fibra musculară; b — fibra nervoasă; c — aparat Golgi.

ŢESUTUL MUSCULAR CARDIAC — MIOCARDUL

Generalităţi. Este un ţesut de origine mezoblastică cu caractere care aparţin în parte ţesutului muscular neted (nucleul situat central) şi în parte fibrei musculare striate (miofibrilele cu striaţii transversale şi longitudinale). Exa-

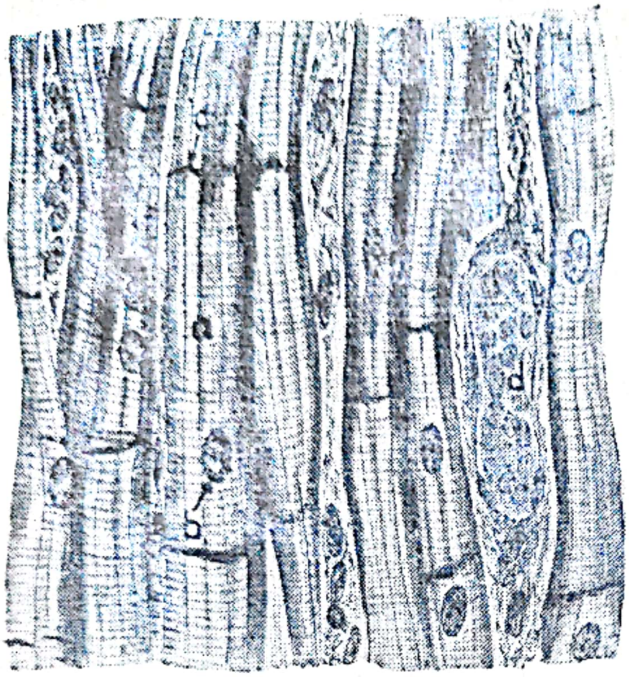
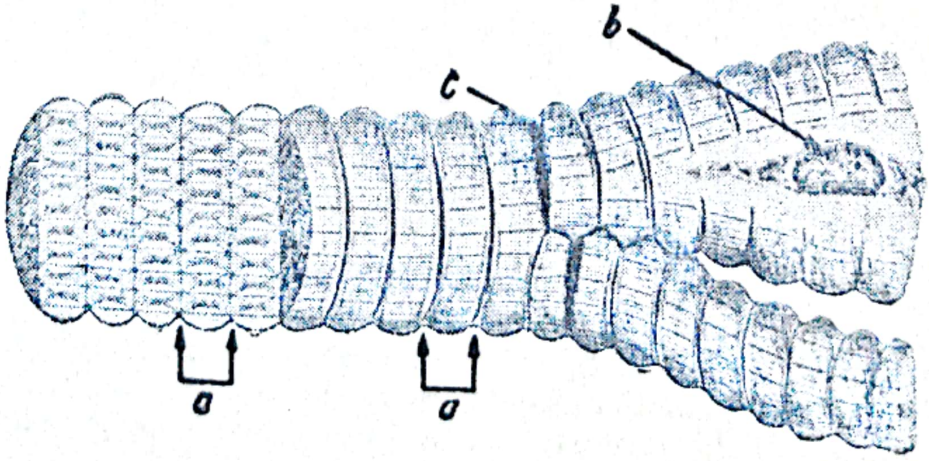


Fig. 142. Țesut muscular cardiac:
a — fibra musculară cardiacă; b — nuclei; c — discuri intercalare; d — capilar.

minate cu microscopul luminescent fibrele musculare cardiace apar la adult sub aspectul unei rețele a unui sinciţiu. În realitate, aşa cum de altfel a fost stabilit prin studiile de microscopie electronică, miocardul este format din celule musculare bine individualizate ce vin în contact unele cu altele la nivelul unor benzi numite discuri intercalare sau striile scalariforme ale lui Eberth (fig. 142).

Caractere morfologice ale fibrei miocardice. La adult fibra cardiacă este groasă de 14 microni, la copil numai de 6—8 microni, iar în cazul de hipertrofie a inimii poate atinge un diametru de 20 microni. Astfel diametrul fibrei miocardice este întotdeauna mai redus decît al fibrei musculare striate (50—100 microni). Capetele fibrei miocardice sînt de cele mai multe ori ramificate (fig. 143). *Nucleul* este aşezat central. De obicei se întîlneşte un singur nucleu în fibra musculară cardiacă, dar pot fi observaţi frecvent şi doi nuclei. Forma lor este rotundă sau ovalară, diametrul de 8 microni şi lungimea de aproximativ 15 microni. *Sarcoplasma* este omogenă şi transparentă; în zona centrală a fibrei cardiace în jurul nucleului şi la periferie sub sarcolemă ea apare mai abundentă decît în fibra musculară striată. Dimpotrivă ea este foarte redusă între miofibrile. În sarcoplasma din jurul nucleului se găsesc granule de pigment brun-închis, granule lipidice şi

Fig. 143. Fibra musculară cardiacă (după Luisada):
a — sarcomer; b — nucleu; c — disc intercalar.



granule de glicogen. Organitele comune şi speciale sînt, de asemenea, prezente în sarcoplasmă. *Sarcozomii* sau mitocondriile au o lungime de 0,2—2 microni şi un diametru de 0,1—1 microni. Sînt mult mai numeroşi decît în fibra scheletată şi sînt aşezaţi mai ales între miofibrile, realizînd între acestea adevărate coloane (fig. 144). Marele număr de mitocondrii în comparaţie cu cel al fibrei musculare striate este determinat de activitatea inimii care funcţionează incontinuu fără intervale de repaus. *Reticulul sarcoplasmic* este mai puţin dezvoltat decît în fibra musculară striată datorită mai ales unui sistem L mai redus. La nivelul fibrei miocardice sînt mai des întîlnite diadele şi nu triadele (un singur sac terminal al sistemului L şi unul transvers). *Complexul golgian* este prezent lîngă nucleu. Miofibrilele sînt grupate în mănunchiuri înconjurate de sarcoplasmă, formînd colonete Leydig în sens longitudinal şi cîmpurile Conheim transversal. Au o grosime de 2—3 microni, deci sînt mai groase decît la muşchii scheletici. Ca şi la muşchiul striat miofibrilele sînt eterogene, prezentînd o striaţie transversală determinată de succesiunea alternativă regulată (în toate miofibrilele la acelaşi nivel) de discuri izotrope străbătute de membrana Z şi discuri anizotrope traversate prin mijlocul lor de stria clară Hensen. Între două strii Z se află cuprins un sarcomer care are o lungime de 2—2,5 microni. Discul izotrop ocupă cea mai mare parte a sarcomerului, avînd 1,4 microni, iar discul anizotrop reprezintă numai 0,6 microni. Ultrastructura lor este întru totul asemănătoare cu cea observată la miofibrilele fibrei musculare striate.

Fig. 144. Miocard (microscopul electronic): S — sarcozomi; RS — reticul sarcotubular; Z — membrana Z.

Discurile intercalare sau striile scalariforme ale lui Eberth sînt caracteristice muşchiului cardiac; pînă la studiile moderne de microscopie electronică erau considerate ca simple membrane Z îngroşate în vederea solidarizării miofibrilelor, iar miocardul era privit ca un sinciţiu. Studiile electronooptice au demonstrat clar că discurile intercalare reprezintă joncţiunea dintre două celule miocardice fiind realizate prin alăturarea membranelor plasmatice ale extremităţilor fibrelor musculare la locul unde acestea vin în contact una cu cealaltă (fig. 145). La acest nivel membranele plasmatice sînt groase de 100—120 Å şi au un traiect şerpuitor, zigzagat, determinînd aspectul de trepte de scară observat la microscopul optic şi denumit striile scalariforme Eberth. Sarcoplasma din preajma membranei celulare apare mai condensată. La nivelul suprafeţelor de contact sarcolemele respective prezintă zone cu

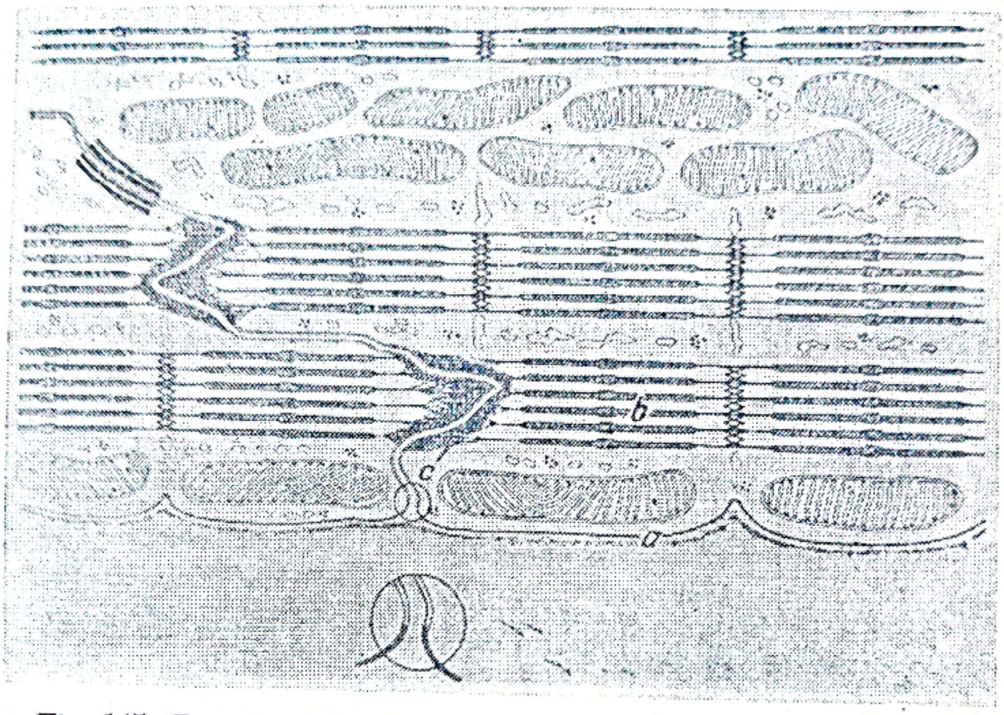
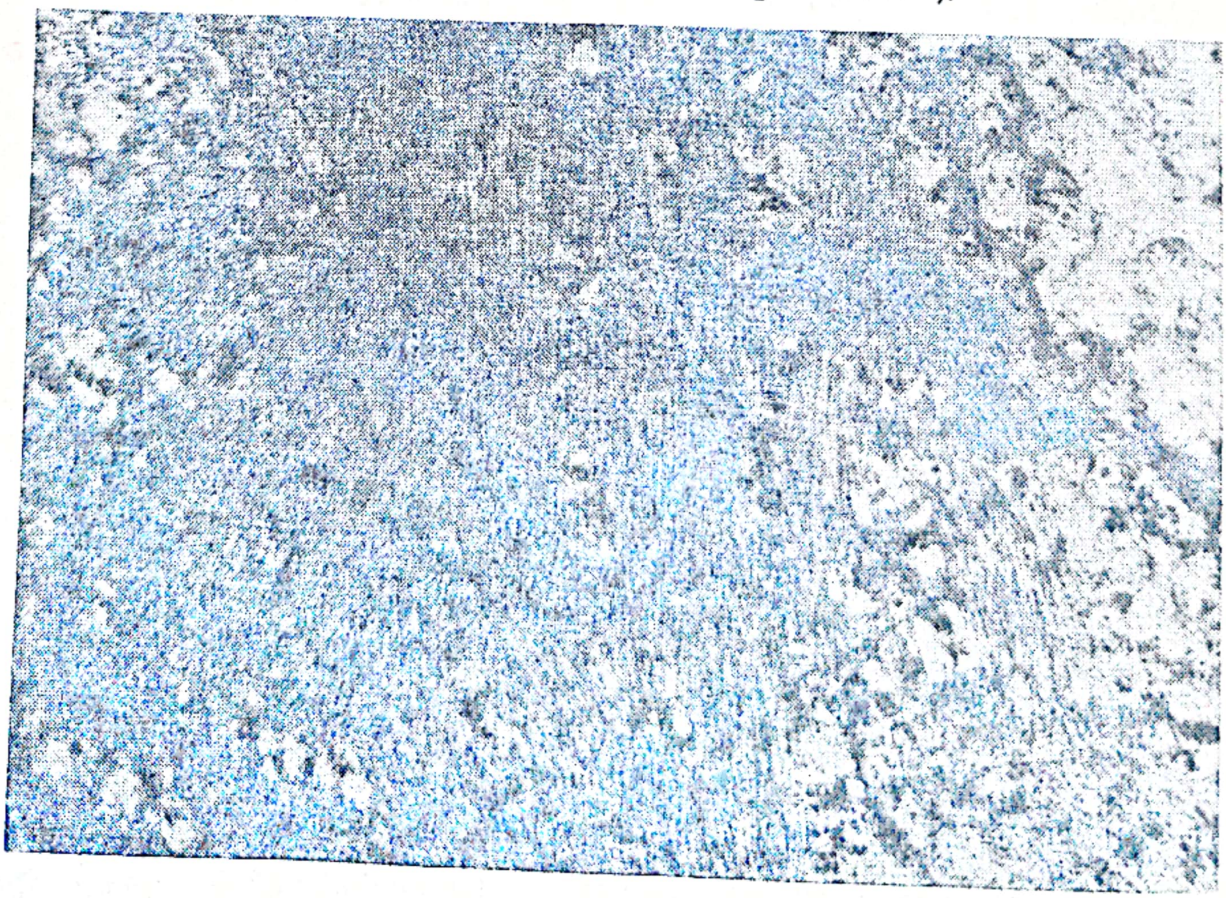


Fig. 145. Disc intercalar (microscopul electronic) (după Sjöstrand):
a — sarcolemă; b — miofilemente; c — desmozomi.

Fig. 146. Disc intercalar (microscopul electronic).



Scanned with OKEN Scanner

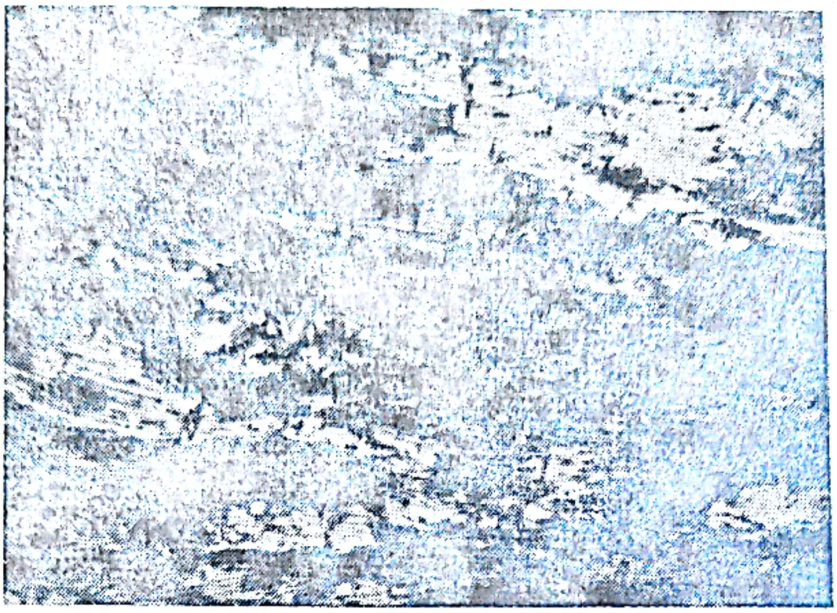


Fig. 147. Miocard. ATP-aza prezentă sub forma unei reacții foarte intense la nivelul discurilor intercalare.

numeroase interdigitații, alternînd cu porțiuni drepte de membrană prevăzute cu desmozomi. Segmentele interdesmozomale sînt punctele pe care se inseră miofilamentele de actină (fig. 146).

S-au demonstrat trei aspecte structurale la acest nivel:

— spațiul dintre sarcolemele învecinate este larg și conține un material amorf; membranele celulelor din zonele respective sînt prevăzute cu desmozomi (macula adherens);

— membranele celulelor adiacente sînt separate printr-un spațiu extracelular mai îngust de 150—200 Å (zonula adherens);

— joncțiunile sînt foarte strînse, spațiul dintre plasmaleme a dispărut, membranele par să fuzioneze, dînd aspectul structural numit de unii autori „nexus" sau „zonula occludentes".

Cercetările histoenzimologice și histochimice efectuate în cadrul catedrei de histologie din București pe țesutul muscular cardiac au dovedit că discurile intercalare posedă o activitate ATP-azică caracteristică, activă la pH 6,8—7,2 și 9,0—9,4 (activată de ionii de calciu și de magneziu și inhibată de atebrină (fig. 147). Discurile intercalare sînt astfel sediul unei foarte înalte utilizări a energiei rezultată din hidroliza compușilor macroergici, la nivelul lor are loc cuplarea excitației-contracției. Procesele biologice care conduc la cuplarea excitației cu contracția în țesutul muscular cardiac poate fi explicată astfel:

1. Excitația provoacă depolarizarea membranei plasmatice laterale (frontul conjunctivo-vascular), de unde se propagă mai departe în lungul fibrei musculare prin interfețele dintre lama proteică externă a membranei plasmatice și stratul mucopolizaharidic.

Scanned with OKEN Scanner

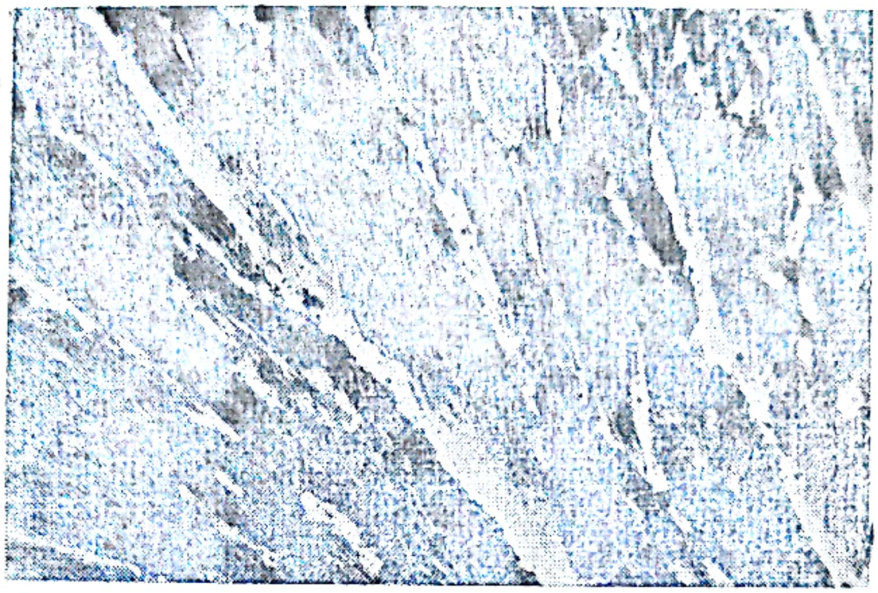


Fig. 148. Miocard. Malicodehidrogenaza absentă la nivelul discurilor intercalare.

2. Unda de depolarizare ajunge la nivelul discului intercalar unde se activează ATP-aza membranelor locale. Este posibil ca ATP-aza discurilor intercalare să fie activată de acetilcolină, deoarece se semnalează la nivelul discurilor intercalare prezenţa acetilcolinesterazei.

3. ATP-aza discurilor intercalare odată activată eliberează calciul care este prezent pe faţa internă a membranelor discului intercalar.

4. Calciul difuzează în sarcoplasmă activînd ATP-aza miofibrilară şi în acest fel este cuplată excitaţia cu contracţia.

Histoenzimologia ţesutului cardiac. Cercetările histochimice efectuate la catedra noastră pe ţesut muscular cardiac au scos în evidenţă o bogată activitate enzimatică la nivelul fibrei miocardice adulte, caracterizată printr-o predominenţă a enzimelor aerobe (fig. 148). În raport cu stadiile de dezvoltare ontogenetică a acestui ţesut se remarcă diferenţe ale acestei activităţi, după cum urmează: în primele luni de stadiu embrionar (luna I, luna a II-a, luna a III-a de viaţă intrauterină), enzimele glicolizei anaerobe, enzimele şuntului pentozic şi ATP-aza pH 7,4, au un nivel ridicat de activitate, în timp ce arilsulfataza şi aminopeptidaza sînt foarte slabe. În lunile a IV-a, a V-a şi a VI-a a dezvoltării intrauterine se produc inversiuni de activitate enzimatică cu scăderea enzimelor anaerobe şi a celor legate de NADP paralel cu creşterea NADH-diaforazei, a enzimelor ciclului Krebs şi a lipoicdehidrogenazei. Tot în această perioadă creşte uşor şi activitatea fosfatazei acide şi mult activitatea ATP-azei pH 9,2. În ultima perioadă de dezvoltare a fătului se tinde spre tipul de ţesut cardiac adult. Miocardul se pregăteşte pentru „starea fermă" enzimatică care să permită muşchiului cardiac contracţii puternice, ritmice şi permanente. Caracteristic pentru acest ţesut în această etapă este nivelul ridicat al activităţii NADH-reductazelor, enzimele

ciclului Krebs legate de NAD și lipoicdehidrogenazei. Scad foarte mult pînă la negativarea enzimelor metabolismului anaerobic al acidului piruvic. Activitatea intensă din această perioadă a celor două enzime lizozomale-arilsulfataza și aminopeptidaza — atrage atenția asupra rolului acestora în biologia fibrei musculare cardiace. Astfel, bogata activitate a arilsulfatazei fibrei musculare cardiace va putea indica că apariția mucopolizaharidelor în faza de maturație a inimii și prezența lor abundentă în sarcolemă trebuie să fie pusă în raport cu perfecționarea proceselor de permeabilitate și conductibilitate a fibrei musculare în general și a fibrei musculare cardiace în special.

Țesutul nodal este reprezentat printr-un sistem de fibre musculare specializate în vederea realizării contracției ritmice și automatice a miocardului, stabilind o legătură anatomică și funcțională între arii și ventricule. El este format din:

— nodulul sinoatrial,
— nodulul antrioventricular,
— fasciculul atrioventricular sau banda lui Hiss,
— rețeaua de fibre Purkinje.

1. *Nodulul sinoatrial sau nodulul lui Keit și Flak* descoperit în 1907 se găsește în grosimea atriului drept la nivelul „sulcusului terminalis" în apropierea deschiderii venei cave superioare în auriculul drept. Se prezintă ca o formațiune de 3 cm lungime și 3 mm diametru. El este format din elemente celulare musculare fusiforme cu o structură și o ultrastructură asemănătoare celor miocardice, dar cu o așezare ceva mai dezlînată. Pe o secțiune transversală și longitudinală se poate observa că celulele nodulului sinoatrial conțin încă un număr mare de miofibrile striate. În mod obișnuit fiecare celulă prezintă 1—2 nuclei așezați central. Nodulul S-A este înconjurat la exterior de o atmosferă conjunctivă subțire fără ca aceasta să pătrundă în interior printre celule.

2. *Nodulul atrioventricular descris de Tawara* în 1906 se găsește localizat în partea posteroinferioară a septului interauricular, fiind format dintr-un mănuchi de fibre musculare striate dispuse neordonat. Deși celulele par înghesuite, mai strîns aranjate unele față de celelalte în interiorul nodulului și deși apar mai groase, mai lungi și cu un număr mai mic de miofibrile, structura lor se aseamănă foarte mult cu a fibrelor din nodulul S-A.

3. *Fasciculul atrioventricular sau fasciculul Hiss* se află așezat înaintea septului interventricular la unirea părții sale fibroase cu cea musculară. După un scurt traiect, fasciculul se bifurcă într-o ramură dreaptă și alta stîngă, destinate fiecare, ventriculului corespunzător. Porțiunile lor terminale se ramifică abundent în zona subendocardică unde se formează o bogată rețea numită rețeaua lui Purkinje. Fascicolul atrioventricular este alcătuit din celule ce se deosebesc de cele ale miocardului, astfel că ele își merită pe deplin denumirea de țesut specific. Pentru a constitui fasciculul sau banda lui Hiss, celulele sînt foarte strîns unite cap la cap, și înghesuite una față de cealaltă. Cu microscopul obișnuit, fibrele musculare de la acest nivel par a fi de cel puțin două ori mai lungi decît cele miocardice; fiecare celulă atingînd o lungime cuprinsă între 100 și 200 microni. Ele conțin organitele ce-

lulare generale bine reprezentate ca şi în celula miocardică iar organitele specifice (miofibrilele) sînt prezente numai în ectoplasmă în număr redus şi dezordonat aşezate. Tehnicile histochimice au pus în evidenţă în celulele din banda Hiss numeroase granule de glicogen. În sarcoplasma celulei sînt semnalate de asemeni formaţiuni ultrastructurale de aspectul unor vezicule cu centru clar mărginite de o membrană netedă avînd semnificaţia lizozomilor. Ei pot fi abundenţi într-o celulă, în timp ce în altele pot să lipsească, variaţii ce ţin probabil de stadiul funcţional în care se găseşte celula respectivă. Fasciculul este înconjurat la exterior de ţesut conjunctiv în structura căruia predomină fibrele reticulare şi de colagen.

4. *Reţeaua Purkinje* este realizată de ramificaţiile distale ale fasciculului Hiss. La capătul lor terminal acestea trec uşor din zona subendocardică în miocard. Dispuse sub forma unei reţele cu ochiuri largi în care se găseşte ţesut conjunctiv, fibrele musculare ce intră în structura acestei formaţiuni conţin o sarcoplasmă abundentă, unul sau mai mulţi nuclei ovalari de talie mare, un număr redus de miofibrile aşezate periferic şi glicogen în cantităţi apreciabile. Pe măsură ce fibrele Purkinje pătrund în miocardul ventricular, ele scad în dimensiuni, devin mai compact aranjate şi vin în contact strîns cu fibrele cardiace ale septului şi ale ventriculului cu care par să se continue.

Histofiziologia ţesutului nodal. Ţesutul nodal este un sistem specializat, format din fibre musculare cardiace diferenţiate care are rolul de a coordona bătăile inimii, reglînd contracţiile auriculare şi ventriculare. Impulsul ia naştere şi porneşte de la nivelul nodulului S-A ce se găseşte la joncţiunea dintre vena cavă superioară cu atriul drept. De aici el este transmis nodulului atrioventricular din peretele atriului drept, mai departe fasciculului Hiss ce se găseşte în porţiunea membranoasă a septului interventricular, şi de la aceasta celor două ramuri ventriculare ale benzii, ajungînd apoi în ultimele ramificaţii (reţeaua Purkinje) care vin în contact cu fibrele miocardice obişnuite.

Scanned with OKEN Scanner

ŢESUTUL NERVOS

GENERALITĂŢI

Ţesutul nervos este constituit din celule nervoase şi celule nevroglice sau gliale. Celulele nervoase, elementele cu cel mai înalt grad de diferenţiere sînt celule cu prelungiri; corpul celular format din nucleu şi citoplasmă numit pericarion, împreună cu prelungirile sale, constituie *neuronul,* denumire dată celulei nervoase de către W a l d e y e r (1891).

Principalele însuşiri ale neuronului, care stau la baza funcţiilor ţesutului nervos, sînt: *excitabilitatea* şi *conductibilitatea.* Excitabilitatea, capacitatea de a răspunde rapid la diferiţi stimuli prin modificări complexe, are la bază iritabilitatea, însuşirea oricărei celule de a răspunde cu modificări structurale şi funcţionale la acţiunea unui excitant. Modificările metabolice ale neuronului, produse de acţiunea stimulilor, generează „influxul nervos". Conductibilitatea, calitate comună tuturor celulelor de a conduce excitaţia, a devenit funcţia specializată a neuronului de a transmite „influxul nervos" la alţi neuroni, sau la alte celule efectoare (glandulare, musculare). Neuronii secretă substanţe chimice (mediatori chimici), prin intermediul cărora ei acţionează asupra altor neuroni sau asupra efectorilor. Neuronul se interpune astfel între stimul şi efector, acesta din urmă răspunzînd acţiunii stimulului, prin intermediul neuronului.

Unii neuroni din creier au capacitatea de a prelucra, de a integra şi de a depozita informaţiile primite (memoria) pentru o perioadă mai scurtă sau mai lungă. În procesul de memorizare se pare că ar participa acizii nucleici.

Neurosecreţia este, de asemenea, o funcţie a unor neuroni din encefal (hipotalamus), prin care aceştia elaborează şi secretă produşi cu acţiune hormonală, influenţînd la distanţă alte celule.

În ţesutul nervos, neuronii stabilesc contacte prin intermediul prelungirilor lor, aşa numitele sinapse şi constitue lanţuri de neuroni. Neuronii sînt înso-

Scanned with OKEN Scanner

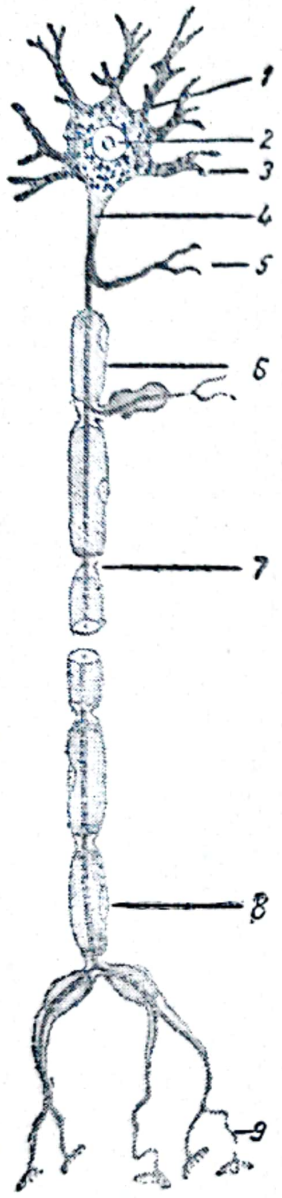


Fig. 149. Schema unui neuron motor periferic: 1 — pericarion; 2 — nucleu; 3 — dendrite; 4 — axon; 5 — colaterale; 6 — teaca de mielină; 7 — strangulaţie Ranvier; 8 — teaca Schwann; 9 — terminaţiile axonului.

ţiţi întotdeauna de celule gliale, celule cu prelungiri şi de aceeaşi origine ectodermală, cu rol important în protecţia şi nutriţia neuronilor.

Neuronii şi nevrogliile formează, împreună cu ţesutul conjunctiv şi vasele, organe nervoase, al căror ansamblu constituie sistemul nervos central şi periferic.

Datorită funcţiilor neuronilor, sistemul nervos realizează unitatea morfofuncţională a organismului şi adaptarea lui la condiţiile variabile ale mediului extern (unitatea organismului-mediu). De asemenea, proprietăţile funcţionale ale neuronilor, dispoziţia şi legăturile dintre ei stau la baza procesului de cunoaştere, activitate specifică omului.

NEURONUL

Neuronul (fig. 149) se caracterizează prin forme şi mărimi variabile. Dimensiunile neuronilor variază în limite largi; cei mai voluminoşi care se găsesc în unele regiuni ale scoarţei cerebrale şi în coarnele anterioare ale măduvei nervoase, au dimensiuni pînă la 125 microni, iar cei mai mici, în scoarţa cerebelului, au 4—9 microni. Variaţiile de formă (fig. 150) sînt date îndeosebi de numărul şi dispoziţia prelungirilor pericarionului. Aceste prelungiri sînt: *dendritele* şi *axonul*. Dendritele sînt prelungiri groase şi relativ scurte, cu o bogată ramificaţie care începe chiar în vecinătatea corpului celular. Numărul, forma şi dimensiunile lor constituie un caracter diferenţial între neuroni. Dendritele recepţionează excitaţiile şi le conduc la corpul celular, fiind astfel prelungiri celulipete.

Axonul este o prelungire unică şi constantă a neuronului, avînd ramificaţii numai în porţiunea terminală. Axonul transmite excitaţia de la pericarion la alt neuron, sau la o celulă efectoare; este deci prelungirea celulifugă. Contactul dintre neuroni se face prin intermediul sinapsei, situată mai ales între dendritele unui neuron şi axonul altul neuron. Propagarea influxului nervos se face astfel într-un singur sens: dendrită-axon. Acest mod de funcţionare este cunoscut sub denumirea de *legea polarităţii dinamice a neuronului*; ea determină dispoziţia neuronilor în lanţ.

Tipuri de neuroni (fig. 150). Neuronii cu un axon şi numeroase dendrite constituie majoritatea şi sînt numiţi neuroni *multipolari;* alţii au un axon şi o singură prelungire dendritică, sînt neuronii *bipolari* localizaţi în retină şi în unii ganglioni (ganglionul Scarpa şi ganglionul Corti); neuronii care prezintă

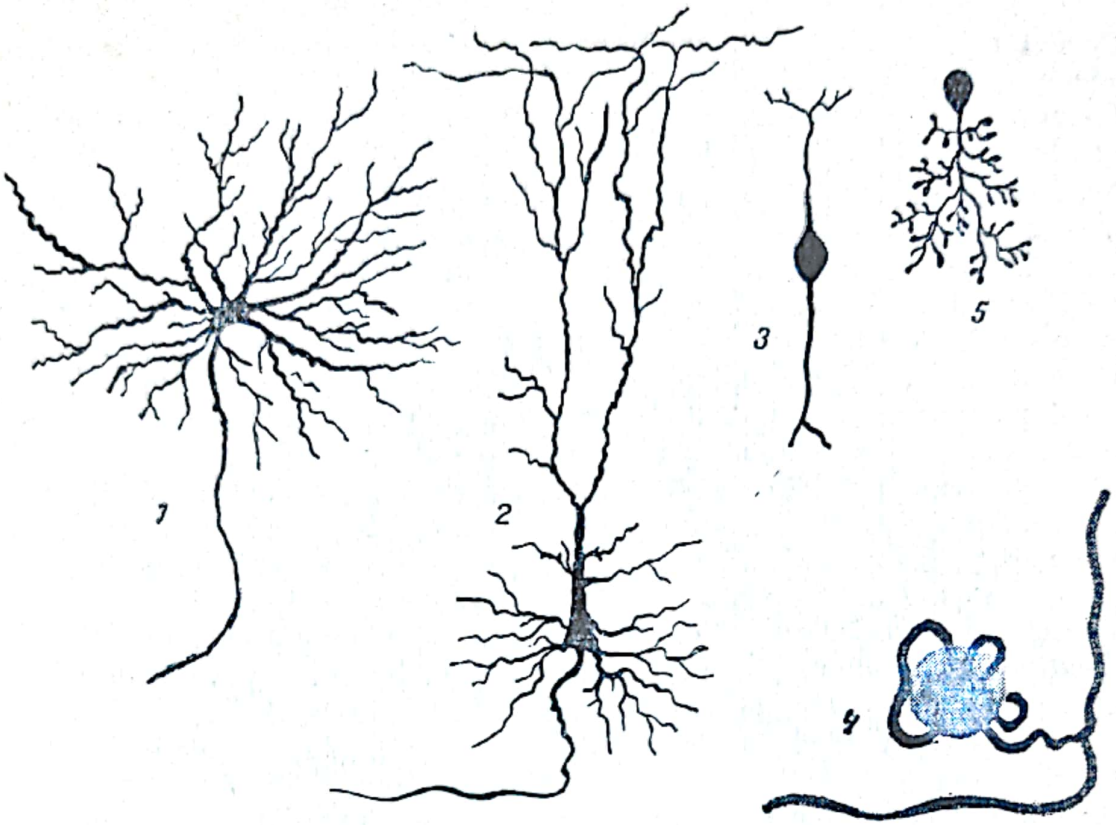


Fig. 150. Tipuri de neuroni:
1 — celulă multipolară din măduvă; 2 — celula piramidală din scoarța creierului; 3 — celula bipolară din retină; 4 — celula pseudounipolară din ganglionul spinal; 5 — celulă unipolară (amacrină) din retină. Impregnație metoda Golgi.

o singură prelungire — axonul — sînt neuronii *unipolari*; aceştia sînt extrem de rari, se găsesc în retină (celulele amacrine). În ganglionii spinali, neuronii prezintă o singură prelungire ce porneşte din pericarion, dar care, după un traiect scurt, se divide în două ramuri: o ramură avînd funcţie celulipetă, şi cealaltă funcţie celulifugă. Aceşti neuroni sînt neuronii *pseudounipolari*. Variaţia de formă a neuronului este dată şi de forma corpului celular, care poate fi rotund, ovoid, alungit sau piramidal.

Formele neuronilor au fost puse în evidenţă de către Golgi, prin metoda sa de impregnare argentică cu cromat de argint. Prin această metodă, *Golgi* a stabilit şi o subdiviziune a neuronilor în neuroni cu axon scurt, ale cărui ramificaţii se termină în strictă vecinătate a pericarionului — neuronii de tip Golgi II (neuronii de asociaţie) şi neuronii cu axon lung, care poate atinge o lungime de circa 1 m — neuronii de tip Golgi I (de exemplu, neuronii de proiecţie din scoarţa cerebrală).

Din punct de vedere *funcţional*, neuronii sînt de trei feluri: neuroni *motori*, neuroni *receptori* şi neuroni de *asociaţie*. Neuronii motori în general mari, multipolari, cu axon ce parcurge distanţe lungi (neuronii multipolari din coarnele anterioare ale măduvei nervoase şi celulele gigante piramidale din scoarţa cerebrală); neuronii de asociaţie sînt neuroni mici, multipolari şi unii bipolari, iar neuronii receptori sînt, de obicei, bipolari (celulele olfactive).

Scanned with OKEN Scanner

Corpul celulei nervoase este format din citoplasmă, nucleu şi membrană celulară.

Citoplasma (neuroplasma) înconjură nucleul şi conţine organite celulare generale şi speciale şi incluziuni.

Nucleul este, de obicei, unic, exceptînd neuronii din ganglionii sacraţi, care conţin 2 sau mai mulţi nuclei. La microscopul optic, nucleii celulelor nervoase sînt, în general, mari, săraci în cromatină, de aspect veziculos, conţinînd 1 sau 2 nucleoli mari. În vecinătatea membranei nucleare s-au descris particule mici, de aspect plan convex, cu diametrul de 0,5—1 micron, care reprezintă *cromatina sexuală,* observabilă numai la persoane de sex feminin. Nucleii neuronilor mici sînt mai intens cromatici. La microscopul electronic s-a observat că membrana nucleară este o dublă membrană, străbătută de pori foarte numeroşi (10% din suprafaţă) şi poate prezenta şi pliuri. În nucleoplasmă se pot distinge cu uşurinţă zone de heterocromatină, în special cea localizată în vecinătatea nucleolului (cromatina asociată nucleolilor).

Dintre *organitele generale* ale citoplasmei, cele mai multe au aspectele obişnuite. *Mitocondriile* sînt răspîndite în toată neuroplasma, fiind bine reprezentate şi în prelungiri, mai ales în porţiunea lor terminală. *Aparatul Golgi,* dispus perinuclear, este, în general, foarte bine dezvoltat (v. fig. 151). Unii autori (A n d r e s, 1964) interpretează rarele structuri veziculare din terminaţia axonală drept elemente omologe celor golgiene. *Lizozomii* sînt răspîndiţi peste tot în cantităţi variabile, predominînd sub formă de corpi multiveziculari în dendrite. *Centrozomii,* evidenţiaţi în celulele nervoase tinere, sînt foarte rari în cele adulte, ceea ce corespunde cu incapacitatea lor de diviziune. Dintre organitele citoplasmice generale, cel mai caracteristic pentru celula nervoasă este aşa-numita *substanţă tigroidă* sau *corpusculii lui Nissl.* La microscopul optic, pe preparate colorate cu coloranţi bazici (coloraţia Nissl) pentru care au o mare afinitate, corpusculii Nissl se prezintă sub aspectul unor grunji de formă rotundă, alungită sau neregulat poligonală, răspîndiţi în toată citoplasma şi în porţiunea iniţială a dendritelor, lipsind în axon şi în conul său de emergenţă (v. planşa XVIII, fig. 24). Mărimea şi numărul lor variază cu mărimea şi funcţiile neuronilor, fiind mai mari şi mai numeroşi în neuronii motori, unde, fiind dispuşi ca petele pe o blană de tigru, au generat denumirea lor de substanţă tigroidă. Ordonarea lor la fel, în acelaşi tip de neuron, a permis o anumită clasificare a acestora. G h. M a r i n e s c u, la începutul secolului XX, studiind evoluţia corpilor tigroizi în neuroni, din stadiul embrionar pînă la senescenţă, a arătat că celula nervoasă devine aptă de a funcţiona, numai cînd aceşti corpi au căpătat forma lor definitivă. El a evidenţiat variaţii ale corpilor Nissl şi în funcţie de starea de excitabilitate şi inhibiţie a neuronilor şi a descris fenomenul de *cromatoliză* (dispariţia corpilor Nissl), caracteristic îmbătrînirii şi suferinţelor neuronale. Cercetări recente, în special ale şcolii suedeze (H y d e n şi alţii, 1944—1967), au confirmat tezele neurohistologului român, marcînd şi mai mult, prin rezultatele experienţelor lor, rolul important al acestor organite în funcţiile specifice ale neuronului. Microscopia electronică a demonstrat că, de fapt, corpii Nissl reprezintă echivalenţi ai ergastoplasmei, fiind formaţi din saci aplatizaţi de reticul endoplasmic rugos dispuşi în stive

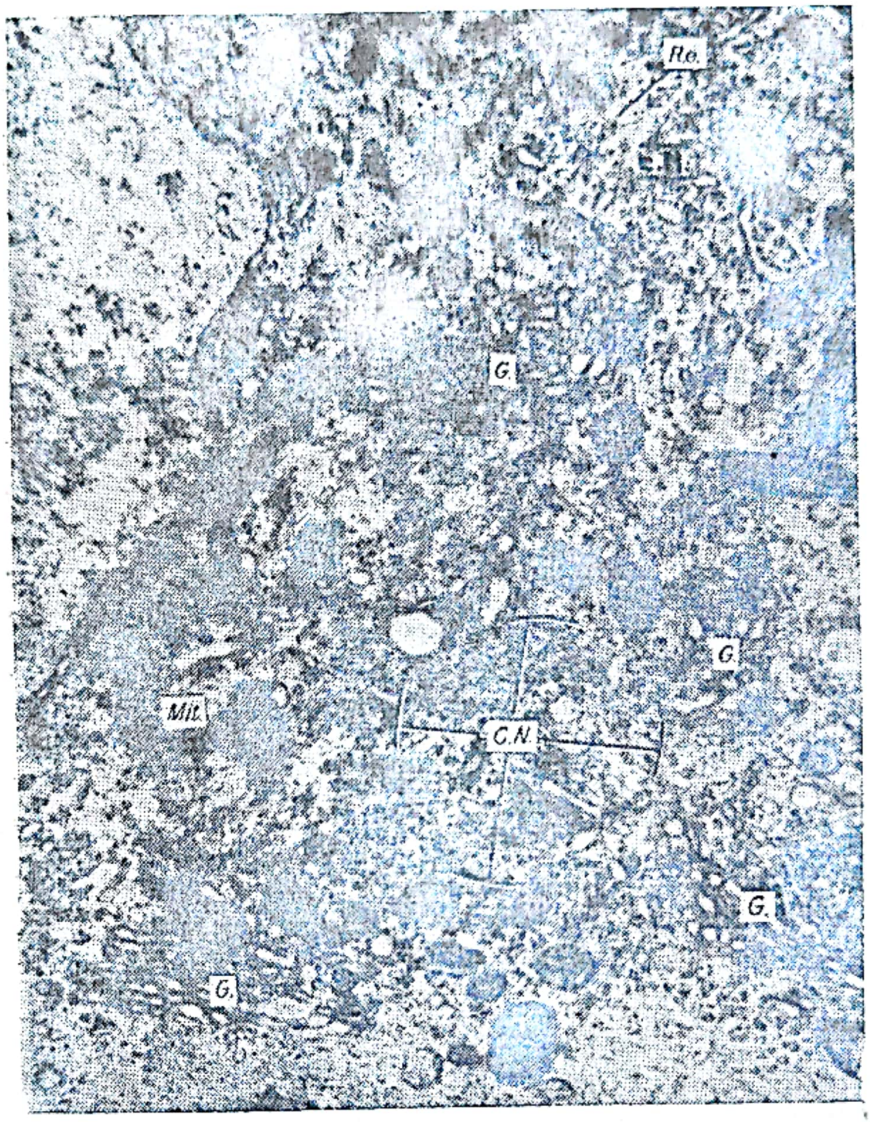


Fig. 151. Secțiune printr-un neuron la microscopul electronic.
Mit — mitocondrii; Re — reticul endoplasmatic;
CN — corpi Nissl; C — aparat Golgi (după Copenhaver).

și din foarte numeroși ribozomi liberi sub formă de polizomi (fig. 151). Dispoziția acestui reticul endoplasmic de tip rugos este mai ordonată în neuronii mari și mai dezordonată în cei de talie mică. Abundența ribozomilor liberi implică și în neuron o sinteză intensă de proteine; de fapt, în celula nervoasă, sinteze proteice „de novo" se produc incontinuu, pentru a asigura formarea și scurgerea unor proteine specifice spre extremitățile axonilor, unde acestea, probabil, vor fi metabolizate. O probă recentă în favoarea ipotezei „curgerii prin axon" o constituie un studiu cu acizi aminați marcați, prin care se observă la numai cîteva minute, încorporarea acizilor aminați marcați în proteinele din jurul nucleului, care apoi apar foarte rapid în conul de emergență al axonului, pentru ca, în axon, proteina marcată să se scurgă cu o viteză de 1,5 mm/zi.

Dintre *organitele citoplasmatice specifice* celulei nervoase, cele mai caracteristice şi mai demult cunoscute sînt *neurofibrilele*. Ele au fost evidenţiate prin impregnări argentice (Ramon Y Cajal) sub forma unei reţele fibrilare în pericarion, sau ca mănunchiuri de fibrile paralele în prelungiri, moderat reprezentate în dendrite, foarte numeroase în axonii mari şi mai puţine în axonii mici (v. planşa XVIII, fig. 25). Neurofibrilele sînt structuri constante, vizibile în anumite condiţii şi în neuronul viu. Gh. Marinescu, studiind aceste elemente în diferite condiţii, a arătat că ele sînt structuri dinamice, pentru că aplicînd metoda coloraţiei vitale cu albastru de metilen pentru studiul oxidazelor, a demonstrat că la nivelul lor se produc active procese de oxido-reducere. Microscopia electronică a evidenţiat în neuroplasmă echivalentul infrastructural al neurofibrilelor, sub forma unor filamente subţiri (neuroprotofibrile), neramificate, de lungimi variabile, cu diametrul de 60—100 Å. După Schmitt şi Davison (1961), fiecare neurofilament pare format din proteine globulare aranjate în spirală. Funcţia acestor elemente este încă în stadiu de ipoteză. Multă vreme s-a crezut că ele ar reprezenta suportul morfologic pentru transmiterea influxului nervos, apoi au fost considerate drept schelet de susţinere pentru neuroplasma fluidă din prelungirile neuronale care uneori se întind pe distanţe foarte mari. În sfîrşit, Guillery (1965) sugerează că aceste organite ar juca un rol în dezvoltarea căilor neuronale; ele ar face parte, probabil, dintr-un mecanism responsabil pentru orientarea fibrelor nervoase de-a lungul anumitor căi — corecte — în decursul formării prelungirilor nervoase şi a regenerării lor.

La microscopul electronic, mai pot fi observate şi formaţiuni tubulare cu diametrul de 200 Å, *neurotubulii*, care se găsesc în majoritatea celulelor nervoase. Ei sînt în număr mai mic în pericarion şi dendrite şi mai numeroşi în axoni mai ales în conul de emergenţă al acestora, unde formează adevărate fascicule. Palay (1968) leagă aceste organite direct de mecanismul de excitabilitate electrică al segmentului proximal al axonului, explicînd că prin contracţiile regulate ale microtubulilor se schimbă forma şi calibrul segmentului iniţial al axonului şi în consecinţă şi permeabilitatea membrei la acest nivel, fapt care va duce la schimbarea potenţialului de membrană.

Cercetările efectuate de Diculescu şi col. (1953, 1957, 1961 şi 1967) dovedesc că atît în condiţii fiziologice cît şi în condiţii experimentale, în celulele nervoase se pot acumula *substanţe glico-lipo-proteice* (care constituiesc substratul biochimic al cromofiliei unor celule) şi *hidrolaze acide* ca sulfatazele, peptidaze şi fosfateze acide. Întrucît reacţiile histochimice respective sînt caracteristice pentru lizozomi, se poate conchide că variaţiile funcţionale ale neuronilor sînt însoţite şi de variaţii cantitative şi calitative ale lizozomilor din citoplasma lor.

În neuroni este constantă prezenţa granulelor de pigment galben — lipocrom. El apare imediat după naştere în celulele ganglionare şi apoi în cele ale sistemului nervos central. Cantitatea lui creşte cu vîrsta. *Granule de pigment melanic* de aspect grosier şi culoare neagră sînt mai numeroase în neuronii din „substanţa nigra". Semnificaţia funcţională a acestor enclave nu este cunoscută. *Enclave lipidice* şi *de glicogen* sînt, de asemenea, evidenţiate prin

Scanned with OKEN Scanner

metode histochimice în neuron. În celula nervoasă, prin metode bio- şi histochimice a fost evidenţiată o bogată *activitate enzimatică.* Astfel menţionăm enzimele oxido-reductorii (citocromoxidaze şi diaforaze), apoi enzimele ciclului Krebs (succindehidrogenaza şi malicodehidrogenaza), enzimele glicolizei anaerobe (lacticodehidrogenaza) şi enzimele şuntului pentozic (glucozo-6-fosfat dehidrogenaza şi 6-fosfogluconat dehidrogenaza), legate toate de mitocondrii şi de neuroplasmă. Dintre hidrolaze, fosfataza acidă, ribonucleaza şi dezoxiribonucleaza sulfataza şi peptidaza sînt localizate mai ales în lizozomi (Diculescu şi col.)

Membrana plasmică a celei nervoase (neurolema sau axolema) are aceeaşi structură trilaminată, de natură lipoproteică, comună tuturor membranelor plasmice. La nivelul pericarionilor, această membrană prezintă o bogată activitate a nucleozidfosfatazelor (de tipul ATP-azei), precum şi a unei colinesteraze nespecifice cu rol în transportul intercelular. O acetilcolinesterază specifică este mai activă în axolemă, cu rol în propagarea impulsului nervos.

Prelungirile neuronului — dendritele şi axonul — şi mai ales acesta din urmă, intră în constituţia fibrelor nervoase.

Dendritele emană din pericarion printr-o porţiune mai îngroşată, se pot divide în ramuri primare, secundare şi terţiare, devenind mai subţiri pe măsură ce sînt mai îndepărtate de emergenţă. Suprafaţa lor nu este netedă, avînd un aspect varicos sau spinos; aceşti „spini" reprezintă de fapt contacte sinaptice pe care dendritele le realizează cu diferiţi axoni. Dendritele sînt acoperite de o membrană plasmică şi conţin numai în citoplasma porţiunii iniţiale mitocondrii şi corpusculi Nissl, neurofibrilele întinzîndu-se şi în ramificaţii.

Axonul este o prelungire unică, care emană dintr-o elevaţie citoplasmatică de formă conică, numită *con de emergenţă* sau *hil;* are suprafaţa netedă, fără spini şi nu se ramifică, deşi pe parcurs poate emite cîteva colaterale în unghi drept, iar în porţiunea terminală dă naştere la cîteva ramuri scurte — *telodendrium.* El este învelit de o axolemă (membrană plasmică), iar în citoplasmă (axoplasmă) se observă mănunchiuri de neurofibrile, neurotubuli, mitocondrii şi fine canalicule de reticul endoplasmic neted. În tot axonul, ca şi în hilul său, lipsesc corpii Nissl (v. fig. 149 şi 152).

Axoplasma cu organitele sale învelite de axolemă constituie *cilindraxul* sau *neuritul.*

FIBRELE NERVOASE

Fibrele nervoase sînt formate, în general, din axoni lungi, dar în constituţia lor pot intra dendrite lungi (de exemplu, dendritele neuronilor senzitivi din ganglionul spinal). Orice fibră nervoasă este formată dintr-un neurit, învelit într-o serie de teci ce se suprapun şi care-i conferă astfel o structură mai mult sau mai puţin complexă.

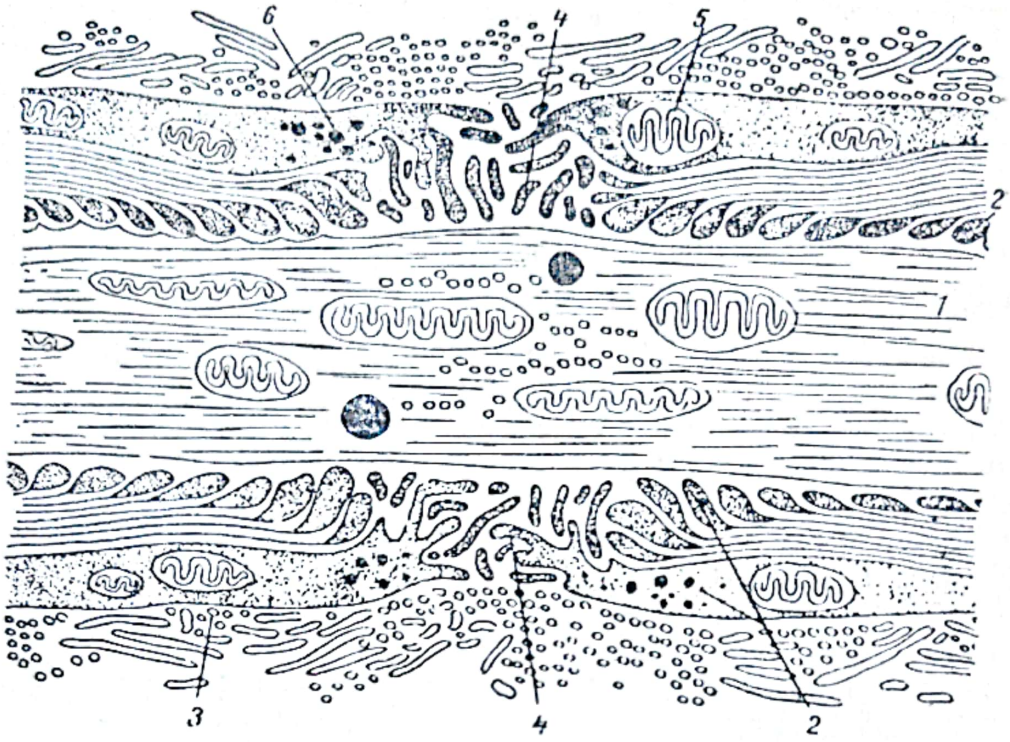


Fig. 152. Schema structurii unei strangulații Ranvier:
1 — neuritul cu protoneurofibrilele; 2 — teaca Schwann; 3 — teaca Key-Retzius; 4 — prelungirile celulei Schwann; 5 — mitocondrii; 6 — vezicule și granule (din Bargmann).

După topografia lor, fibrele nervoase sînt de două feluri: *fibre centrale*, aparținînd sistemului nervos central (SNC) și *fibre periferice* din sistemul nervos periferic (SNP).

Fibrele din SNC sînt învelite de o manta neuniformă de celule gliale, iar cele din SNP, de un rînd de celule gliale ordonate cap la cap, formînd un înveliș continuu, numit *neurolemă* sau *neurilemă* sau *teaca Schwann*.

Pe cea mai mare parte a lor, fibrele nervoase, atît centrale cît și periferice, pot fi înconjurate și de un strat de material lipido-proteic, interpus între neurit și învelișul glial, numit *teacă de mielină*. După prezența sau absența acesteia, fibrele nervoase (centrale și periferice) mai sînt denumite *mielinice* sau *amielinice*.

Fibra nervoasă periferică mielinică este formată dintr-un neurit, o teacă de mielină, o teacă Schwann sau neurolemă, peste care se mai suprapune o manta conjunctivă, numită *teaca endoneurală*, sau *teaca Henle* sau *teaca Kay-Retzius*.

Neuritul este format din neuroplasmă sau axoplasmă*, continuare a citoplasmei pericarionale, învelit de membrana plasmică-axolema*. În axoplasmă

* Termeni nu totdeauna proprii, dar utilizați mai frecvent, pentru că neuritul este mai adesea o prelungire axonică decît una dendritică.

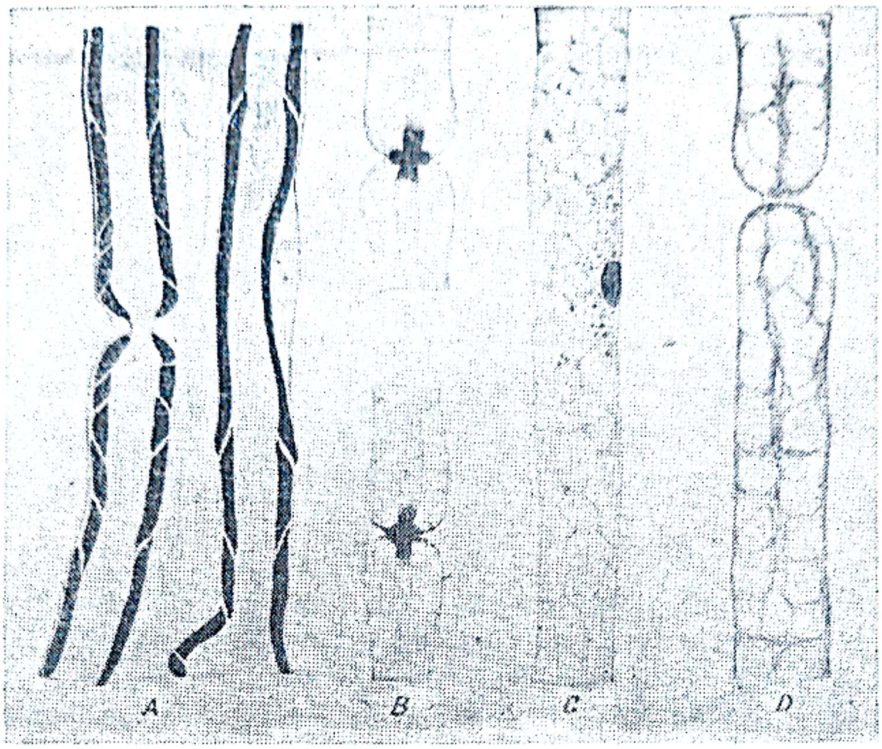


Fig. 153. Fibre nervoase mielinice:
A — evidențiate cu tetraoxid de osmiu; B — impregnare argentică; C — albastru de metilen; D rețeaua de neurocheratină (după Grepp).

cu microscopul optic se pot observa mitocondrii și neurofibrile, în continuarea celor din pericarion. Microscopul electronic mai evidențiază aici prezența unor microvezicule de 200—500 Å și rare granule ribozomale libere (fig. 152).

Neuritul este învelit de *mantaua de mielină;* aceasta este de natură lipoproteică, conținînd în cantitate mare colesterol, fosfolipide și unele cerebrozide. În stare proaspătă, mielina conferă fibrelor nervoase un aspect alb-strălucitor; după fixare și colorare cu metode uzuale (de exemplu, hematoxilină-eozină), materialul lipidic se dizolvă, iar proteinele rămîn precipitate sub forma unei rețele de „neurocheratină" (fig. 153, D). Prin tratare cu săruri de osmiu, mielina se colorează în cenușiu pînă la negru, din cauza substanțelor lipoidice pe care le conține. Cu acest procedeu se observă că teaca de mielină lipsește în porțiunea inițială și terminală a fibrelor nervoase; în restul fibrei ea apare discontinuă, fiind întreruptă la intervale neregulate de 80—600 microni, prin niște gîtuituri largi de 2—10 microni, numite *strangulațiile inelare ale lui Ranvier* sau *nodulii lui Ranvier* (v. fig. 149 și 153, A și planșa XVIII, fig. 26). Între strangulații, manșoanele de mielină se numesc *segmente interinelare* sau *internodale,* lungimea lor fiind în raport direct cu lungimea fibrei nervoase. Tot prin utilizarea sărurilor de osmiu, de-a lungul unui segment internodal se mai pot observa niște despicături oblice în teaca de mielină, numite *incizurile lui Schmidt-Lantermann* (fig. 153).

Scanned with OKEN Scanner

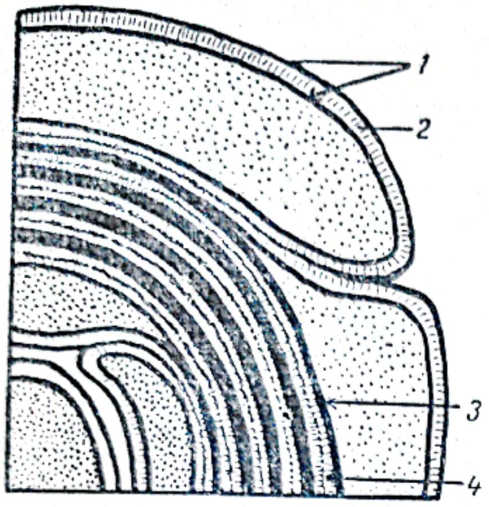


Fig. 154. Reprezentarea schematică a lamelelor tecii de mielină la microscopul electronic:
1 — proteine; 2 — lipide; 3 — linie densă majoră; 4 — linie interperiodică (după Copenhaver).

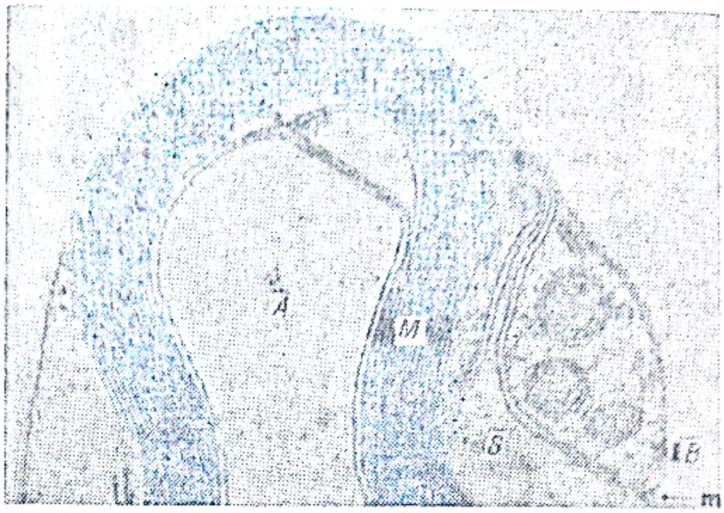


Fig. 155. Fibra nervoasă mielnică la microscopul electronic:
A — axon; M — mielină; S — celulă Schwann; B — membrană bazală; m — mezaxon extern (după Grep).

Deşi au fost interpretate de unii autori drept artefacte după fixare, prezenţa lor în fibrele nervoase proaspete, ca şi evidenţierea lor la microscopul electronic, le atestă ca unităţi de structură, dar cu o semnificaţie funcţională încă necunoscută.

Prin difracţie cu raze X s-a văzut că mielina este formată din lamele concentrice lipoidice, alternînd cu straturi de natură proteică. Microscopia electronică evidenţiază şi ea în teaca de mielină lamele concentrice de material dens, gros de 25—30 Å, *linii dense majore*, separate prin straturi luminoase de 100 Å grosime. Între două linii dense majore, materialul luminos este străbătut de o linie densă, subţire, numită *linie interperiodică* (figura 154). Tot microscopia electronică a demonstrat că teaca de mielină nu este un material secretat de axon sau de celulele Schwann, ci lamelele ei reprezintă de fapt suprapuneri concentrice ale membranei plasmice a celulei Schwann — cu care se văd că se continuă (fig. 155).

Datorită acestei structuri, tecii de mielină i se conferă o importanţă semnificaţie funcţională, deoarece prin modificări de permeabilitate ea ar putea constitui o barieră pentru ionii necesari în conducerea influxului nervos şi acesta se va elibera numai la nivelul strangulaţiilor Ranvier, conducerea făcîndu-se în „salturi", cu economie de material şi energie.

Teaca de mielină apare mai tîrziu în filo- şi ontogenie. Fibrele mielinice sînt caracteristice sistemului nervos al vertebratelor, fiind rare la nevertebrate. În ontogenie, mielinizarea începe între a IV-a şi a V-a lună a vieţii intrauterine şi se termină după naştere, cuprinzînd treptat diferite fibre şi sisteme de fibre nervoase; unii consideră că mielinizarea este completă abia la vîrsta de 25 de ani.

Scanned with OKEN Scanner

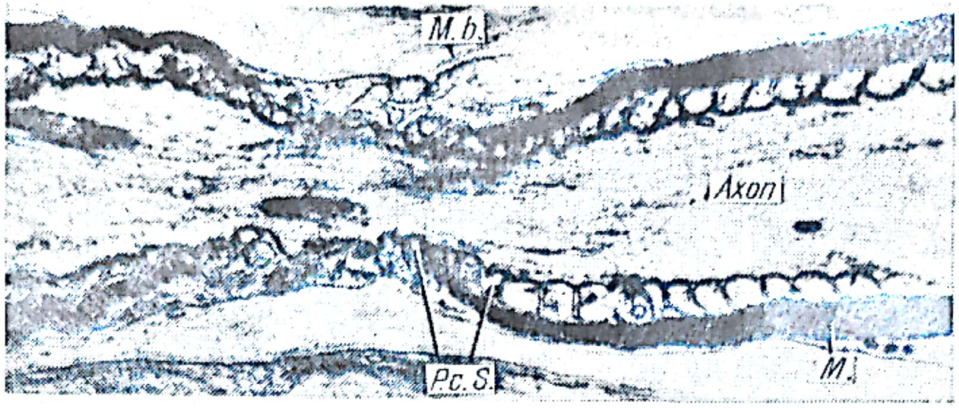


Fig. 156. Strangulație Renvier dintr-o fibră nervoasă mielnică la microscopul electronic:
M — mielină; Mb — membrană bazală; P.c.S — procesele celulelor Schwann (după Copenhaver).

Teaca Schwann sau *neurolema* sau *neurilema* se găsește în afara tecii de mielină, iar la microscopul optic are aspectul unui tub subțire și continuu, care învelește fibra trecînd și peste strangulațiile Ranvier. Ea este formată din celule gliale Schwann, de origine ectodermală, fiecare celulă corespunzînd unui segment mielinic interinelar. Nucleul acestor celule este situat cam la mijlocul segmentului, iar în citoplasma din jur se pot identifica mitocondrii, un aparat Golgi și granule de ribozomi. Microscopia electronică demonstrează că, de fapt, teaca Schwann este formată din celule separate, care la nivelul strangulațiilor Ranvier prezintă prelungiri citoplasmice digitiforme, de lungimi diferite, care umplu spațiul internodal, fac contact cu axolema neuritului, se pot interdigita fără să fuzioneze (fig. 156).

Tot microscopia electronică a clarificat și problema formării tecii de mielină pe seama celulelor neurolemale. Astfel s-a putut observa că, în primele faze de dezvoltare ale neuronului, axonul este golaș, iar ulterior celule gliale Schwann se dispun de-a lungul său, astfel încît la un moment dat el se va găsi cuprins într-un jgheab al citoplasmei acestor celule (v. fig. 157). La locul de invaginare a citoplasmei, membranele marginilor externe ale jgheabului format de celula Schwann fac contact fără să se contopească — zonă denumită *mezaxon* (fig. 157). Ulterior, celula Schwann, printr-o mișcare de rotire în jurul axonului (observabilă în culturi de celule), va da naștere unor lame subțiri de citoplasmă — dispuse în spirală în jurul neuritului; în timp, prin comprimarea citoplasmei, suprafețele interne (citoplasmatice) ale membranelor adiacente ale celulei neurolemale se vor apropia foarte mult, dînd naștere liniei dense majore, iar straturile proteice externe ale membranelor, prin apoziție, vor da naștere liniei interperiodice, care se va găsi cuprinsă între două straturi luminoase de molecule lipidice ale acestor membrane. La nivelul strangulațiilor Ranvier se observă cum lamelele mielinice mai conțin o cantitate redusă de citoplasmă, formînd acele prelungiri digitiforme care sînt cu atît mai lungi, cu cît lamela de mielină este mai externă (v. fig. 154 și 156).

Scanned with OKEN Scanner

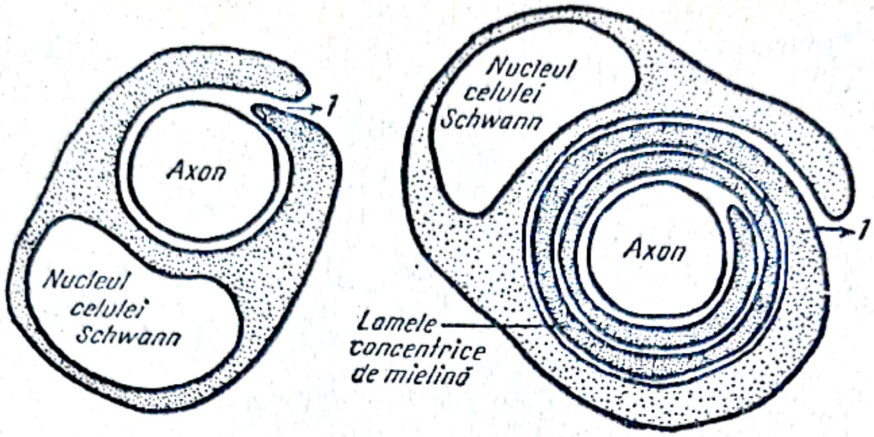
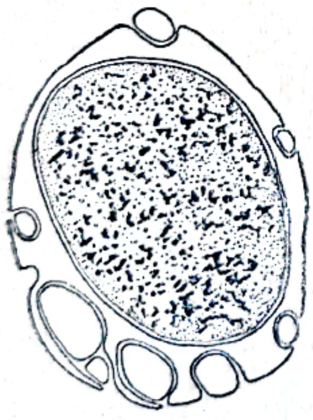


Fig. 157. Schema mielinizării unei fibre nervoase (după Copenhaver): 1 — mezaxon.

Teaca Henle sau *Key-Retzius, teaca endoneurală*, separă membrana plasmatică a celulei Schwann de ţesutul conjunctiv din jurul fibrei nervoase. Este o teacă continuă care, ca şi teaca Schwann, însoţeşte neuritul pînă aproape de ultimele sale ramificaţii. Ea este formată din substanţă fundamentală şi fibre fine, cu predominenţă elastice, dispuse în reţea. Aceste fibre se continuă cu fasciculele conjunctive ce aparţin ţesutului conjunctiv dinafara fibrei nervoase. Teaca endoneurală, prin structura ei, are rol important în permeabilitate şi rezistenţă.



B

Fig. 158. Fibre nervoase amielinice — schemă după imaginea electronooptică (după Copenhaver)

Fig. 159. Fibre nervoase amielinice (imagine electrono-optică) (după Copenhaver).

Fibra nervoasă periferică amielinică şi *fibra Remak* au fost considerate ca fiind lipsite de teaca de mielină; aceste fibre sînt de fapt mielinice, teaca de mielină este însă foarte subţire, invizibilă la microscopul optic. Prezenţa ei a fost evidenţiată prin microscopia în lumina polarizată şi prin metoda difracţiei razelor X. La microscopul electronic se vede cum mai mulţi axoni pot fi înconjuraţi de o singură celulă Schwann, fiind cuprinşi în înfundături ale citoplasmei acestei celule (fig. 158 şi 159). Fibra Remak, în genere fibră vegetativă, are aceleaşi componente structurale, dar este mai subţire.

Fibra nervoasă centrală, ca şi cea periferică, se prezintă sub cele două aspecte de *fibră mielinică* şi *amielinică*. Deosebirea constă în absenţa tecii Schwann, care este înlocuită prin alte celule gliale cu prelungiri puţine — oligodendroglia.

Din punct de vedere fiziologic, fibrele nervoase sînt: fibre motorii, fibre secretorii, fibre senzitive, fibre de asociaţie şi fibre vegetative cu rol motor şi cu rol senzitiv (fibre receptoare). Fibrele vegetative sînt, la rîndul lor, fibre mielinice şi amielinice.

TERMINAŢIILE NERVOASE

Fibrele nervoase se ramifică în porţiunea lor distală; prin aceste ramificaţii, neuronii intră în relaţie unii cu alţii, cu celule efectoare sau cu elemente receptoare; legătura se face prin intermediul sinapsei.

Sinapsele sînt porţiuni înalt specializate prin care o celulă nervoasă stabileşte contact funcţional fie cu o altă celulă nervoasă, fie cu un receptor sau efector. Primele observaţii asupra organizării sinapselor au fost obţinute la microscopul optic prin diferite metode histologice. Cu metoda Golgi (1870) s-au evidenţiat terminaţiile axonale de dendrite, pe pericarion, sau pe porţiunile iniţiale ale altor axoni. Cu metoda Held (1897) s-a evidenţiat existenţa mitocondriilor la nivelul sinapsei şi s-a marcat prezenţa unor „picioruşe terminale" sau a unor „măciulii" pe suprafaţa pericarionilor mari. În sfîrşit, prin metoda Ramon Y Cajal (1903) s-a putut semnala prezenţa unor butoni sinaptici pe suprafaţa pericarionilor sau dendritelor. Distribuţia sinapselor vizualizate cu aceste trei metode nu este perfect superpozabilă (fig. 160).

La microscopul electronic se observă că în general contactele sinaptice dintre neuronii sistemului nervos central, deşi destul de variate ca formă, au un plan de organizare comun. Astfel, un *complex sinaptic* este format dintr-o *componentă presinaptică*, o *componentă postsinaptică sau subsinaptică* şi între ele un spaţiu intercelular de 150—200 Å numit spaţiu sau *fantă sinaptică* (v. fig. 160). Componenta presinaptică este, în general, o expansiune axonală terminală, de forma unei pungi sau a unui bulb, numită *buton presinaptic*, cu un diametru de 0,5—4 microni. Aici, o axolemă trilaminată înconjoară exoplasma, care conţine în interior mitocondrii, grămezi de mici vezicule cu diametrul de 300—600 Å, numite *vezicule sinaptice* şi *neurofilamente* (fig. 161). *Mito-*

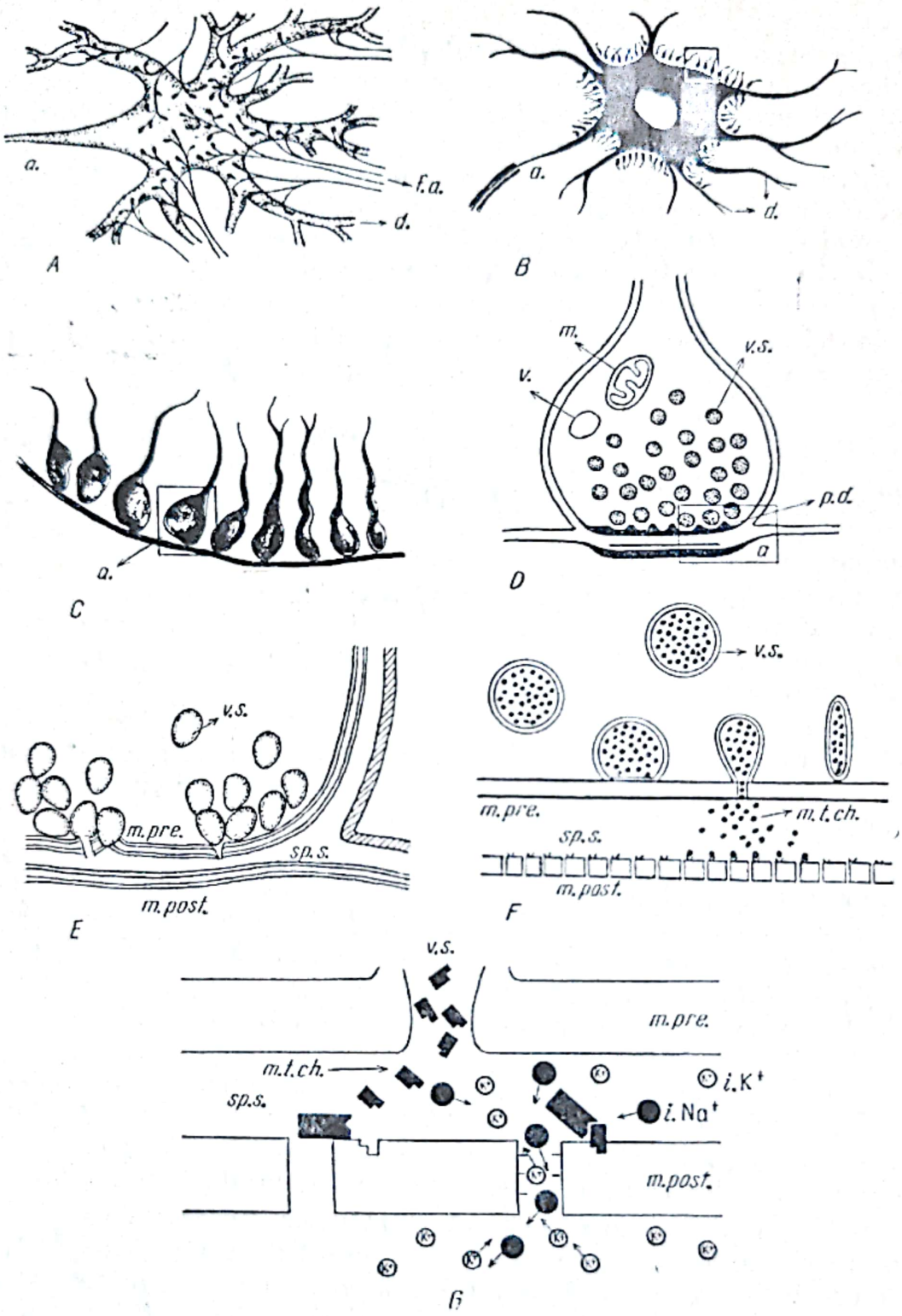


Fig. 160. Schema joncţiunii butonilor sinaptici la diferite puteri de rezoluţie:

A şi B — butoni sinaptici pe dendritele şi pericarionul unui neuron multipolar, microscop optic (obiectiv slab):

a — axon; d — dendrite; f.a — fibre aferente; C — butoni terminali, microscop optic (obiectiv puternic); a — teritoriu mărit la D; D — buton terminal, componenta presinaptică, microscop electronic; a — teritoriu mărit la E; m — mitocondrie; p.d. — prelungire densă; v — vacuolă; v.s. — vezicule sinaptice; E — schemă a membranelor sinaptice (microscop electronic cu o foarte mare putere de rezoluţie); v.s. — vezicule sinaptică; m.pre — membrană presinaptică; m.post — membrană postsinaptică; sp.s — spaţiu sinaptic; F — vezicule sinaptice ce conţin transmiţători chimici; v.s — veziculă sinaptică; m.t.ch — molecule de transmiţători chimici; m. pre. — membrană presinaptică; m. post. — membrană postsinaptică; sp.s. — spaţiu sinaptic.

Scanned with OKEN Scanner

condriile de la acest nivel au un aspect comun şi sînt dispuse în zona mijlocie a butonului, printre veziculele sinaptice. Numărul lor variază de la 1—12 pe un buton, ceea ce dovedeşte că între sinapse există diferenţe metabolice semnificative. *Veziculele sinaptice* au un conţinut clar, sînt înconjurate de o membrană şi au forme şi dimensiuni relativ uniforme (300—600 Å). Aceste vezicule dispuse în grămezi sînt un element comun în toate componentele presinaptice, atît la nevertebrate cît şi la vertebrate. Acest fapt, ca şi scăderea numărului lor pînă la completa dispariţie după secţionarea axonului, a făcut să se presupună că ele ar conţine transmiţători chimici de tipul acetilcolinei şi al epinefrinei, pe care iar elibera prin membrana presinaptică în spaţiul sinaptic. Originea, ca şi soarta lor, nu este încă complet clarificată; s-a sugerat că s-ar forma în pericarion la nivelul aparatului Golgi, de unde ar migra prin axon, sau chiar prin caniculele axonale. În afara veziculelor sinaptice, în butonii presinaptici au mai fost descrise două tipuri de vezicule: *vezicule granulare* şi *vezicule de neurosecreţie*. Primele au dimensiuni de 800—900 Å, conţin în interior o granulă mică şi densă la fluxul de electroni. Veziculele granulare au fost descrise mai ales în regiuni nervoase care conţin catecolamine. Veziculele de neurosecreţie sînt cele mai mari, cu diametrul de 1 000—4 000 Å şi au întregul conţinut dens la fluxul de electroni; deoarece morfologic sînt identice cu cele observate în sistemul hipotalamo-hipofizar, s-a emis ipoteza că ar putea exista relaţii între fenomenul de neurosecreţie şi eliberarea mediatorilor chimici. *Neurofilamentele* din butonii presinaptici sînt asemănătoare cu cele din pericarion şi prelungiri, formînd aici un reticul lax sau în inel. Întotdeauna ele sînt în contact strîns cu veziculele sinaptice şi cu mitocondriile, dar nu ajung niciodată pînă la membrana presinaptică (v. fig. 161). Secţionarea axonului este urmată de o creştere marcată a neurofilamentelor.

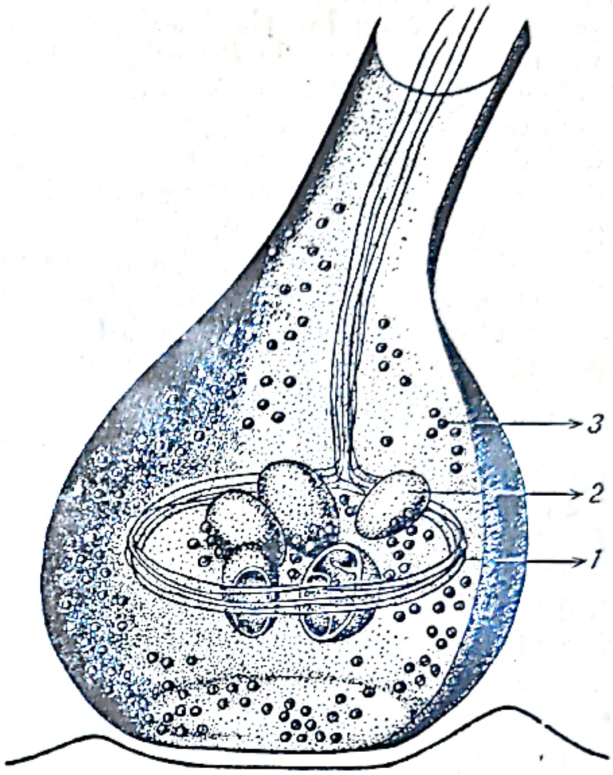


Fig. 161. Schema unui buton terminal:
1 — neurofilamente sub formă de inel; 2 — mitocondrii; 3 — vezicule sinaptice.

La nivelul membranelor plasmice care mărginesc fanta sinaptică se observă zone de contact specializate de tipul desmozomilor din ţesutul epitelial, aşa-numitele *îngroşări pre- şi postsinaptice*. Astfel, pe faţa internă a axolemei butonilor sinaptici se poate observa o condensare a axoplasmei de aspect fin granular, numită îngroşarea presinaptică, ca şi prezenţa unor prelungiri dense,

Scanned with OKEN Scanner

regulat espasate; în relaţii strînse cu aceste prelungiri dense se văd adesea aglomerări de vezicule sinaptice. Pe faţa internă a membranei plasmice (din componenta postsinaptică), se constată prezenţa unei condensări citoplasmatice numită *îngroşare postsinaptică*, de aspect fin granular sau filamentos, mai densă şi mai groasă decît omonima sa presinaptică. În fanta sinaptică se descrie uneori o zonă îngustă de material dens, situată mai aproape de membrana postsinaptică (v. fig. 160).

În sistemul nervos central a fost semnalată existenţa unor *joncţiuni închise*, în care axolemele sînt fuzionate, încît un spaţiu interneuronal chiar dacă există, este mai mic de 20 Å, fiind sub limita de rezoluţie a microscopului electronic. Aceste joncţiuni închise se prezintă sub forma a trei benzi întunecate, despărţite prin două benzi luminoase; banda centrală densă reprezintă straturile externe ale axolemelor apoziţionale care sînt în contact direct; este aspectul cunoscut sub numele de „unitate de membrană 5 laminară" a lui Mir şi Peters (1962). Aceste joncţiuni interneuronale închise sau *„discuri sinaptice"* după Robertson (1963) au fost implicate în transmisia electrică, pentru că au fost observate mai ales în acele regiuni ale sistemului nervos central unde fiziologic se ştie că ar avea loc o transmisie sinaptică electrică. După Eccles (1964), aceste joncţiuni închise par mult mai potrivite cu o transmitere chimică, unde existenţa unui spaţiu intercelular de 150—200 Å pare esenţială pentru curgerea curentului care va depolariza membrana postsinaptică.

Teoria neuronală sau teoria contiguităţii. În această concepţie, neuronul este considerat ca o unitate structurală şi funcţională, care este în strînsă relaţie cu alţi neuroni prin intermediul sinapsei. La baza acestei teorii au stat date fiziologice. Descoperirea structurii sinapsei la microscopul electronic a adus confirmarea morfologică a acestei teorii. Teoria neuronală sau teoria contiguităţii se opune unei concepţii mai vechi — concepţia neurofibrilară (Bethe, Apathy), după care neuronii s-ar găsi în legături de continuitate prin trecerea neurofibrilelor dintr-un neuron în altul; teoria continuităţii este infirmată de noile date morfologice şi fiziologice. În lanţul neuronal, un neuron poate face sinapsă cu mai mulţi neuroni, ceea ce duce la o sumare a excitaţiilor care sînt astfel transmise la alţi neuroni sau la alte celule. De asemenea, o celulă nervoasă poate primi excitaţii de la un număr mare de neuroni. Astfel, celula multipolară motorie din coarnele anterioare ale măduvei nervoase face sinapse cu aproximativ o sută de neuroni (v. fig. 160, A).

În afară de terminaţiile sinaptice mai există terminaţii ale fibrelor motorii cu origine în sistemul nervos central, în sistemul nervos autonom şi terminaţii periferice ale fibrelor senzitive (v. ţesuturile şi organele în care se găsesc diferitele aspecte ale acestor terminaţii nervoase).

DEGENERESCENŢA ŞI REGENERAREA FIBRELOR NERVOASE

Pericarionul şi prelungirile sale constituie o unitate. Deci orice leziune a pericarionului va duce la degenerescenţa prelungirilor sale, după cum leziunile fibrei nervoase se vor reflecta în modificările structurale ale centrului său

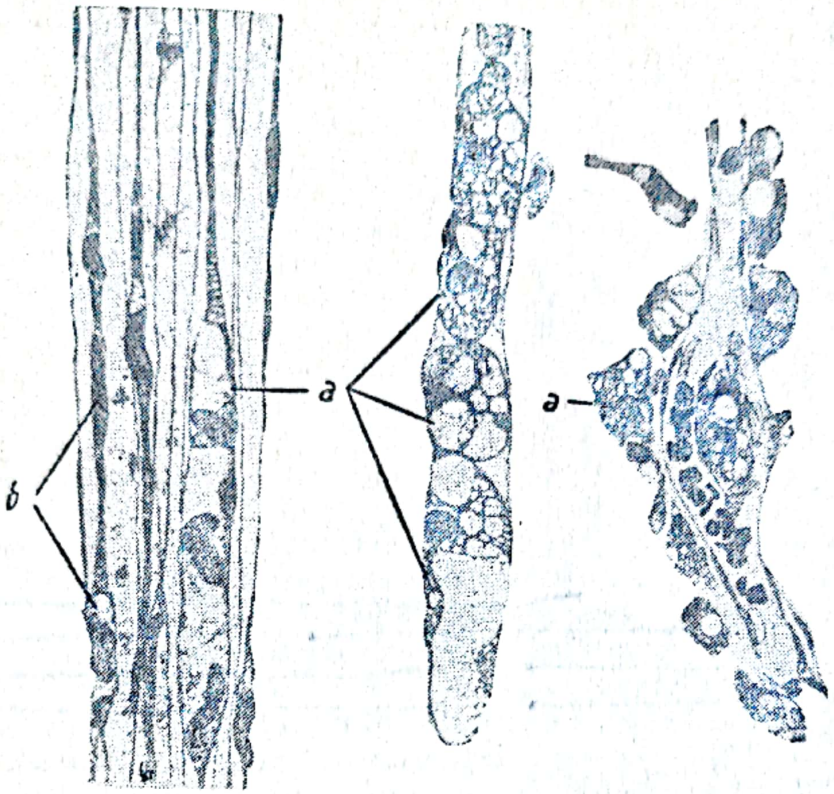


Fig. 162. Degenerescența secundară a fibrelor nervoase mielinice:
a — corpi grași; b — celule Schwann proliferate (după Bouin).

trofic — pericarionul. Aceste modificări sînt de grade diferite: unele reversibile, și în acest caz fibra va putea fi regenerată de către pericarion, altele însă, ireversibile, vor duce la moartea neuronului.

Fibrele nervoase în cursul unor traumatisme pot fi secționate sau strivite. În urma acestor leziuni, fibra nervoasă degenerează. Degenerarea, după cum s-a văzut, poate fi, sau nu, urmată de regenerare. Cunoașterea acestor procese este de mare importanță teoretică și practică, de aceea numeroși cercetători le-au acordat o atenție deosebită. O contribuție valoroasă la înțelegerea procesului de regenerare a fost adusă de Gh. Marinescu prin cercetările sale asupra modificărilor corpilor Nissl și asupra unor procese enzimatice din cursul regenerării nervilor.

Degenerescența waleriană sau degenerescența secundară (figura 162). Începînd cu cercetările lui Waller (1852), se știe că secționarea unei fibre nervoase provoacă degenerescența extremității sale periferice. Acest tip de degenerescență este cunoscut sub numele de degenerescență waleriană. Procesele sînt complexe și se petrec într-o perioadă de timp variabilă (minimum 4 săptămîni). Degenerescența începe în fibrele motorii, de exemplu la nivelul plăcii motorii (sinapsa neuromusculară), și prima manifestare de ordin funcțional este pierderea excitabilității. Imediat însă, axonul reacționează prin fragmentarea neurofibrilelor, urmată de dezagregarea și fragmentarea mielinei care se transformă în corpi ovoizi grăsoși (v. fig. 162, a); structura chimică a

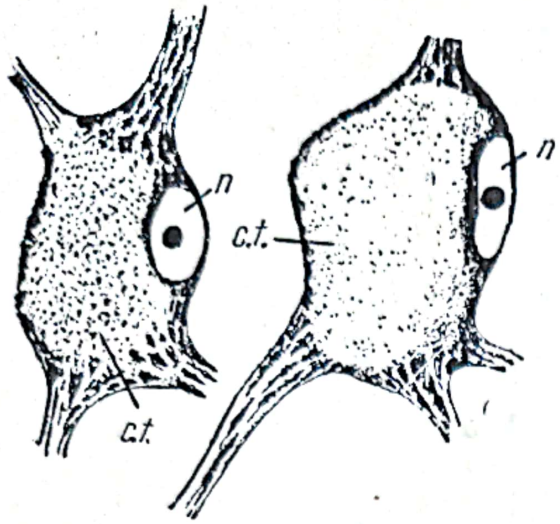


Fig. 163. Modificări celulare în degenerescența retrogradă:
n — nucleu; c.t. — corpi tigroizi în cromatoliză (după Copenhaver).

mielinei se modifică și ea, corpii ovoizi evidențiindu-se cu coloranții sudanici, specifici grăsimilor neutre. Fragmentele degenerate ale neuritului și mielinei sînt apoi fagocitate de către celulele Schwann și de macrofagele venite din țesutul conjunctiv din jurul fibrei. După dispariția neuritului și a tecii sale de mielină rămîne teaca Schwann ale cărei celule s-au înmulțit prin diviziune — o parte devenind macrofage, iar restul formează benzi înguste, numite bandeletele Büngner. Acestea vor îndeplini un rol important în regenerarea fibrei nervoase. Dacă regenerarea nu are loc, proliferarea celulelor Schwann continuă și se formează la locul leziunii o tumoră numită „schwanom de amputație".

Degenerescența retrogradă (fig. 163). Degenerescența capătului distal al fibrei nervoase se repercutează și asupra pericarionului, care suferă modificări reversibile sau ireversibile, în funcție de intensitatea acțiunii traumatice și de regiunea, mai apropiată sau mai îndepărtată de pericarion, unde s-a produs leziunea. Fenomenele degenerative, asemănătoare în totul cu cele ce se petrec la capătul distal, se extind de la locul leziunii și spre pericarion. Această degenerescență este numită *degenerescența retrogradă*. Ea începe în primele 24 de ore de la leziune și atinge maximum după două săptămîni. Modificările retrograde ale pericarionului constau în dispariția corpilor Nissl, fenomen numit de către Gh. Marinescu *cromatoliză*; acest fenomen este urmat de umflarea corpului celular, mărirea viscozității citoplasmei și deplasarea nucleului spre periferie, către dendrite. Aceste procese sînt provocate de o activitate crescută a unor enzime oxidative: citocromoxidaza și succindehidrogenaza. Modificările pot fi reversibile și neuronul își recapătă structura lui normală. Prin reapariția corpilor Nissl, neuronul poate sintetiza proteinele necesare regenerării fibrei nervoase; încă Gh. Marinescu a subliniat rolul enzimelor în procesul de regenerare.

Regenerarea fibrelor nervoase (fig. 164) constă din creșterea și alungirea bandeletelor Bünger dinspre segmentul central al fibrei lezate către periferie, unde se unesc cu extremitățile bandeletelor de la capătul distal, refăcîndu-se astfel teaca Schwann. Neuritul crește în interiorul acestor bandelete pe care le străbate pe toată întinderea lor. Prezența neuritului frînează activitatea proliferativă a celulelor Schwann și le incită spre a forma teaca de mielină.

Scanned with OKEN Scanner

Astfel, fibra se reface structural şi funcţional. Regenerarea este un proces de lungă durată, neuritul avînd o creştere de 1—3 mm în 24 de ore. Procesul de regenerare poate fi întîrziat în cazul cînd la locul leziunii a pătruns în bandelete ţesut conjunctiv din teaca Henle, care a format o împîslire fibroasă bogată ce se opune trecerii neuritelor; totuşi, creşterea lor continuă şi la acest nivel neuritele se îngrămădesc, se înfăşoară şi formează împreună cu tecile Schwann o tumoră numită *„nevrom de cicatrice"* sau *„de pseudoregenerare"*. Prezenţa acestui nevrom provoacă adesea dureri şi tulburări senzoriale caracteristice.

Cînd nervul este întrerupt prin diferite leziuni, degenerescenţa nervului este urmată de degenerescenţa organului terminal (de exemplu, muşchiul). Aceste tulburări pot fi remediate dacă se cunoaşte procesul de regenerare şi condiţiile în care ea se realizează. Regenerarea se poate produce relativ uşor, dacă cele două capete lezate ale nervului sînt puse imediat în contact; ea se face mai repede şi în condiţii mai bune la tineri.

Fig. 164. Regenerarea fibrelor nervoase: b.B. — bandeletele Büngner; n — neurit.

NEVROGLIILE

Celulele nevroglice sau gliale care se găsesc în număr foarte mare în jurul pericarionului şi a prelungirilor sale (se apreciează că în sistemul nervos există aproximativ 6 gliocite pentru un neuron), sînt şi ele celule cu prelungiri ce formează o împîslire cu rol de protecţie şi suport al neuronilor. Interpuse între neuroni şi vasele sanghine, celulele gliale servesc şi pentru nutriţia neuronului. Celulele gliale răspund prin modificări structurale şi cantitative acţiunii diferiţilor factori nocivi. Aceste modificări constituie un mijloc de diagnostic al proceselor patologice. Datorită reactivităţii lor, glicocitele au rol important în repararea leziunilor din ţesutul nervos. Celulele gliale se evidenţiază numai prin tehnici de impregnare. În coloraţiile obişnuite nu se observă decît nucleii care se disting de nucleii neuronilor prin dimensiunile şi structura lor.

Cunoştinţe despre structura nevrogliilor se datoresc tehnicilor imaginate de neurohistologii Ramon Y Cajal şi Del Rio Hortega. Folosind pentru im-

pregnare sublimatul coroziv — clorură de aur — după fixarea în formol — bromură de amoniu — Ramon Y Cajal a reuşit să evidenţieze detaliile de structură ale gliilor pe baza cărora el a distins două tipuri de celule gliale: *glia fibroasă* şi *glia protoplasmatică*. *Del Rio Hortega* folosind carbonatul de argint a reuşit să impregneze şi să evidenţieze o celulă glială mult mai mică decît celelalte glii — *microglia*, — sau *celula Hortega* — şi o altă celulă cu prelungiri puţine, pe care a numit-o *oligodendroglia*.

Cercetările efectuate de Gh. Marinescu asupra modificărilor celulelor gliale în diferite procese patologice constituie o contribuţie valoroasă la adîncirea cunoştinţelor despre rolul acestor elemente.

După topografia lor deosebim *celulele gliale ale centrilor nervoşi* şi *celulele gliale periferice*.

In *centrii nervoşi* se găsesc gliile protoplasmatice şi gliile fibroase care împreună constituie macroglia sau astroglia; se găsesc, de asemenea, oligodendroglii, microglii şi glia ependimară.

Gliile protoplasmatice sau *astrogliile* (v. planşa XIX, fig. 27) se găsesc în număr mare în substanţa cenuşie, în jurul pericarionilor, constituind sateliţii lor. Aceste celule au un corp mic şi prelungiri scurte, bogat ramificate şi sinuoase. Unele dintre ele iau contact cu un capilar sanguin prin prelungirile care se lăţesc şi se aplică pe vas. Prin aceste pedicule vasculare, celulele gliale iau din capilar substanţele nutritive pe care le transmite neuronului. Microscopia electronică a arătat că membrana plasmatică din jurul acestor prelungiri prezintă o serie de cute la nivelul cărora, prin microcinematografie, s-au observat unde de contracţie. Aceste observaţii vin în sprijinul concepţiei rolului nevrogliei în nutriţia neuronului. Nucleul acestor celule este sărac în cromatină, citoplasma perinucleară şi din prelungiri conţine mitocondrii numeroase. Metodele de histochimie relevă incluziuni de glicogen, lipide şi pigment. Varietăţi de glie protoplasmatică sînt celulele Bergman din cerebel şi celula Müller din retină.

Glia fibroasă (astroglia) (v. planşa XIX, fig. 28), macroglia, caracteristică substanţei albe, are un nucleu mic, ovoid sau rotund şi o citoplasmă cu prelungiri lungi, subţiri, netede şi puţin ramificate. În citoplasmă, pe lîngă constituenţii obişnuiţi, se găsesc fibrile — gliofibrilele — care se continuă în lungul prelungirilor. Gliofibrilele sînt formate din filamente subţiri, de 150 Å diametru, cu structură periodică (periodicitate de 200 Å), cu o birefringenţă pozitivă. Una sau mai multe prelungiri iau contact cu capilarele sanguine prin îngroşări ale extremităţilor, numite *trompe vasculare*. Pe lîngă rolul nutritiv pentru neuron, nevroglia fibroasă are rol în procesul de cicatrizare a ţesutului nervos. La microscopul electronic, astrocitele protoplasmatice şi astrocitele fibroase sînt celule mari, cu contur neregulat şi astroplasmă clară. Nucleii, rotunzi sau ovali, au nucleoplasma fin granulară, exceptînd zona limitrofă a membranei nucleare, ceea ce-i deosebeşte de nucleii neuronilor mici. În citoplasma astrogliilor se găsesc rare mitocondrii şi corpi denşi, un reticul endoplasmatic sărac şi zonă Golgi (fig. 165).

La microscopul electronic s-a mai observat că toate astrocitele prezintă şi unele *prelungiri lameliforme*, extrem de fine (150—200 Å) ce se răspîndesc

printre elementele ţesutului nervos; se dispun în jurul capilarelor, îmbracă pericarionul şi dendritele mari, aşa încît, cu excepţia sinapselor, „lamelele" îmbracă neuronul în întregime (fig. 166).

Între prelungirile astrogliilor şi membrana bazală a vaselor, la nivelul picioruşelor perivasculare, se observă văluri ale membranei plasmatice şi vezicule mici în celulele endoteliale, de partea opusă a văluri-lor, ceea ce indică o activitate pinocitotică capilar-astroglie.

Astrogliile se contractă ritmic în culturi de ţesut nevroglic, fapt demonstrat şi experimental prin şocuri, ca răspuns al celulelor gliale. Se pare că asemenea contracţii au fost observate şi pe secţiuni de ţesut nervos nefixat.

În boli ale sistemului nervos apare un tip reactiv de astroglie — hipertrofic — a cărui activitate enzimatică este mult mai mare decît în astrogliile normale, care în genere sînt destul de sărace în enzime oxidative.

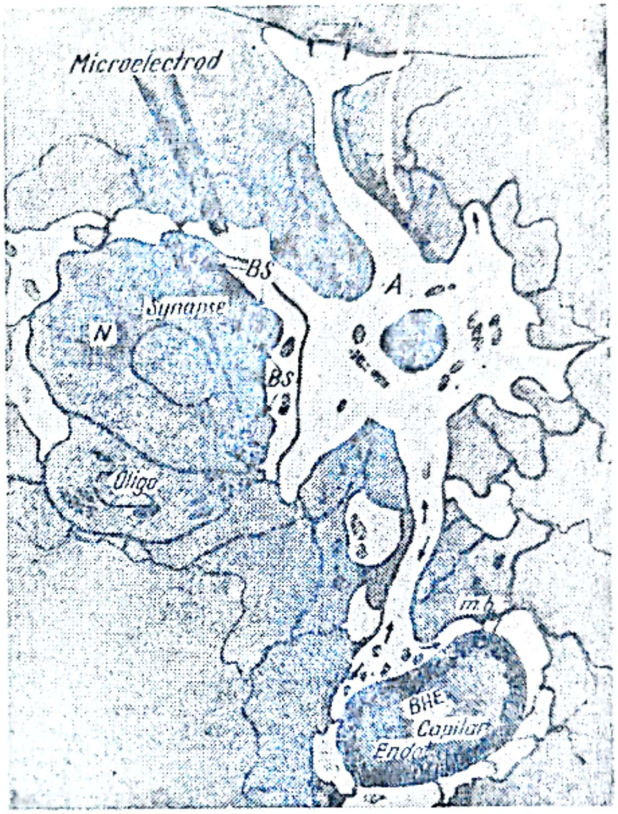


Fig. 165. Relaţiile unui astrocit cu alţi componenţi ai substanţei cenuşii:
A — astrocit; N — neuron; B.H.E. — bariera hematoencefalică; m.b. — membrana bazală; oligo-oligo-dendroglie; B.S. barieră sinaptică.

Oligodendroglia (fig. 167) se dispune în jurul celulelor nervoase, în substanţa cenuşie, sau în şiruri lungi de-a lungul fibrelor nervoase, în substanţa albă. Aceste celule sînt mai mici, cu prelungiri puţine şi mai puţin ramificate, prezentînd nodozităţi. La microscopul electronic, citoplasma este foarte densă, conţine numeroase mitocondrii, un bogat reticul endoplasmic şi ergastoplasmă, microtubuli foarte fini şi numeroşi corpi denşi ce conţin, în parte, o substanţă paracristalină.

Oligocitele nu vin în contact cu capilarele, deoarece între capilar şi oligocit se interpun întotdeauna prelungirile lamelare ale astrocitelor. După forma şi mărimea corpului şi după numărul prelungirilor, oligocitele au fost clasate în patru tipuri, dintre care două tipuri constituie sateliţi ai fibrelor nervoase.

Citoplasma lor conţine în timpul mielinizării o ergastoplasmă mai bogată, mitocondrii mai numeroase şi granule dense, vizibile şi la microscopul optic şi considerate ca fiind în legătură cu sinteza de mielină, teaca de mielină din jurul fibrelor nervoase centrale fiind elaborată de oligodendroglie.

Histochimic, oligocitele prezintă o activitate mai intensă a enzimelor oxidative decît astrocitele. Oligocitele din substanţa albă diferă de cele din sub-

Scanned with OKEN Scanner

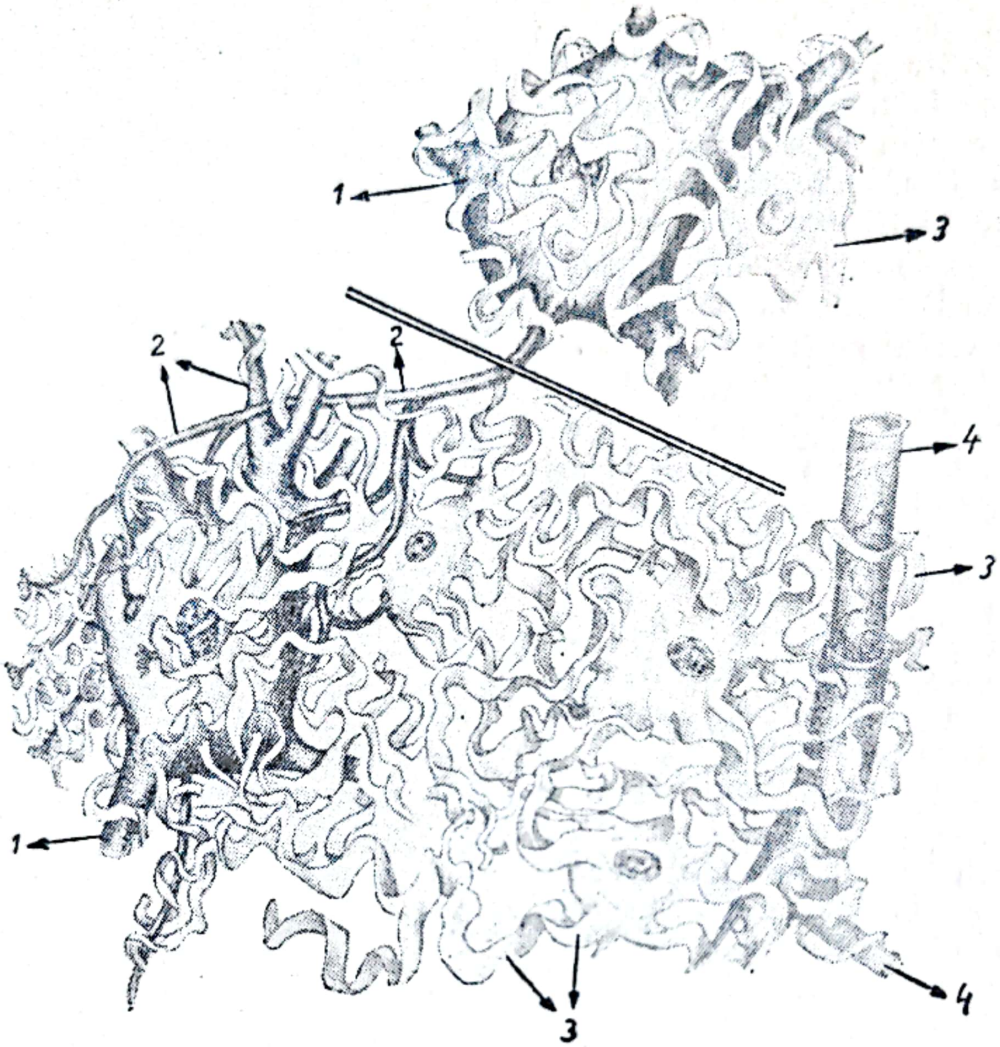


Fig. 166. Schemă a relaţiilor între neuroni şi nevroglii:
1 — neuroni; 2 — prelungiri neuronale; 3 — celule nevroglice cu prelungiri lameliforme; 4 — vas sanguin.

stanţa cenuşie; diferenţa histochimice existînd şi între cele 4 tipuri de oligocite.

Microglia sau *mezoglia* se găseşte atît în substanţa nervoasă cenuşie cît şi în cea albă (v. planşa XIX, fig. 29). Microglia predomină în substanţa cenuşie în jurul neuronilor; aici ea este deci un *satelit perineuronal* şi în jurul vaselor spre care trimite unul sau mai mulţi pediculi vasculari. În substanţa albă, ea formează *sateliţi perifibrilari*. Microglia nu se evidenţiază prin tehnicile de impregnare ale macrogliei, ci prin tehnici speciale. Are un corp mic şi forme variate, un nucleu alungit şi prelungiri bogat arborizate dispuse diferit în raport cu forma celulei; prelungirile prezintă pe suprafaţa lor îngroşări care le dau un aspect spinos; microglia se poate mobiliza şi prezintă funcţia de fagocitoză şi ultrafagocitoză (S. Brătianu şi colab.). Ea fagocitează celulele nervoase degenerate şi resturile provenite din degenerarea fibrelor nervoase. După fagocitoză microgliile se transformă în corpi rotunzi granulo-grăsoşi numiţi

corpii Glügge. Microglia neutralizează substanțele nocive provenite din metabolismul neuronilor (Del Rio Hortega, ș.a.).

Nevroglia ependimo-ventriculară este reprezentată de celule cuboidale care tapetează canalul ependimar, ventriculii cerebrali și plexurile coroide. Nucleul celulelor este situat bazal; polul apical este prevăzut cu cili, iar din polul bazal emerg mai multe prelungiri scurte și ramificate sau o prelungire mică foarte alungită.

Microscopia electronică evidențiază la polul apical microvilozități, cili și desmozomi. În citoplasmă, o zonă Golgi și mitocondrii numeroase ocupă o poziție supranucleară.

Glia periferică este reprezentată de celulele satelite ale neuronilor din ganglionii nervoși spinali și simpatici. Un alt reprezentant al gliei periferice este celula Schwann din jurul fibrelor nervoase periferice.

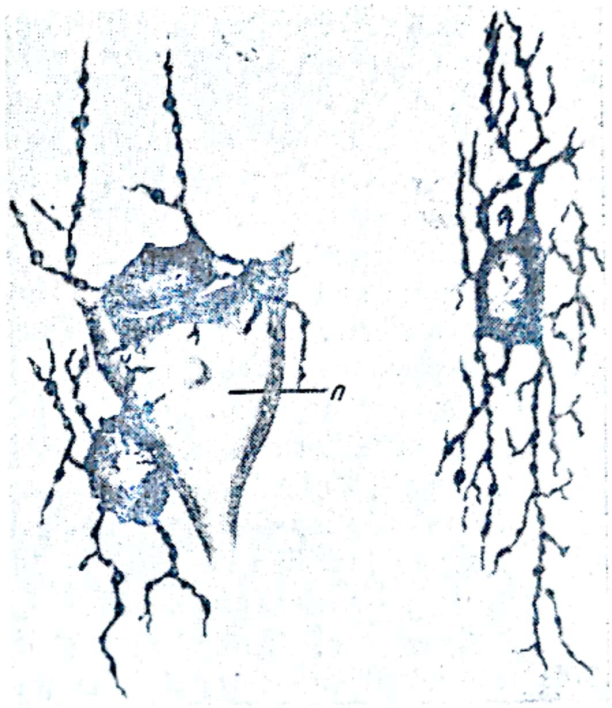


Fig. 167. Oligodendroglii:
n — neuron. Impregnare Del Rio Hortega (după Grepp).

Nevroglia perineuronală din ganglionul *simpatic* este sferică cu multe prelungiri de diferite lungimi, unele cu o citoplasmă reticulară, iar *nevroglia periexpansională* are 1—2 prelungiri în spirală. Nevroglia ganglionilor *spinali* se poate prezenta și ea sub aspect *perineuronal;* celule sferice cu 1—2 prelungiri dispuse în jurul sau între pericarion și capsula conjunctivă și ca *celule gliale periexpansionale.*

Nevrogliile nervilor și ale terminațiilor nervoase sînt *celulele Schwann* din fibrele nervoase mielinice, *celulele Remak* din fibrele simpatice amielinice și *lemnocite sau gliile din terminațiile nervoase;* toate au prelungiri numeroase, fine, citoplasma conține mitocondrii, un reticul granular bogat, cisterne golgiene, lizozomi și gliofilamente.

Membrana gliei este mai densă la fluxul de electroni decît membrana neuronului; între neuron și glie există întotdeauna un spațiu de 200 Å.

Histofiziologia nevrogliei. Nevroglia îndeplinește multe funcții importante în relațiile cu neuronul. Existența picioruşelor vasculare arată rolul de element de nutriție pentru neuron. Transferul de material nutritiv de la capilar la astrocit, a fost confirmat prin motilitatea celulei și prin prezența barierelor din spațiile extracelulare. Transferul se face prin citoplasma gliei — transcelular — de la capilar spre neuron.

Lucrările de histochimie ale școlii suedeze (Hyden, 1967) au demonstrat că neuronul și nevroglia constituie un „complex funcțional" metabolic. Neuronul,

Scanned with OKEN Scanner

ca şi nevroglia, sintetizează activ ARN, dar în anumite condiţii patologice, gliile pot ceda neuronului acest ARN. Nevrogliile satelite şi periexpansionale par a acţiona în simbioză cu neuronul, ele putînd sintetiza şi ceda neuronului substanţe necesitate de acesta. Hyden socoteşte că astrogliile oferă neuronilor energie, nemaiavînd nevoie decît de a transforma această energie.

Nevrogliile au un rol în formarea şi menţinerea tecii de mielină.

Nevrogliile participă la formarea barierelor fiziologice ale sistemului nervos. Cercetări mai vechi făcute la microscopul optic, au fost confirmate de microscopia electronică care a arătat că neuronul nu vine în contact cu membrana bazală a capilarelor sanguine, între ele găsindu-se fine prelungiri ale oligocitelor şi microgliilor. Barierele joacă un rol important în protecţia neuronului, comportîndu-se ca un filtru. Alterarea barierelor are consecinţe grave asupra neuronilor.

Un alt rol al nevrogliei constă în controlul metabolic al excitabilităţii neuronale printr-un fenomen de inducţie, hiperpolarizarea gliei inducînd în neuron un proces de depolarizare.

— Nevroglia joacă, după unii, şi un rol în activitatea sinaptică din cauza intimei asociaţii cu neuronul. Glia nu pătrunde însă în sinapsă. Faptul care pledează pentru acest rol al gliilor este conţinutul lor în colinesterază nespecifică, cu semnificaţia încă necunoscută, bănuită numai că ar acţiona în transmiterea influxului nervos printr-o influenţare a spaţiului extracelular din apropierea sinapselor.

Histogeneza ţesutului nervos. Neuronii şi glicocitele au aceeaşi origine ectodermală, excepţie face microglia, care este de origine mezodermală. Neuronii şi gliile se dezvoltă din celulele care formează tubul neural şi din celulele ectodermale din constituţia crestelor neurale. Tubul neural şi crestele neurale apar după închiderea şanţului neural, provenit din invaginarea plăcii neurale, îngroşare a ectodermului embrionar pe linia sa mediană. Epiteliul tubului neural este iniţial format din celule prismatice continue, dispuse radiar în jurul luminii canalului ependimar. Prin proliferarea acestor celule apare un epiteliu pseudostratificat format din celule bipolare, cu nuclei dispuşi la nivele diferite, fiecare celulă însă fiind ataşată prin picioruşe la membrana limitantă internă (spre lumen) şi la membrana limitantă externă; aderenţa este mai puternică şi mai intimă la membrana limitantă internă.

Printr-o metodă de disociere mecanică, combinată cu micromanipularea ce permite izolarea unei celule sau a unui grup de celule împreună cu prelungirile lor centrale şi periferice, E. Menkes şi colaboratorii au demonstrat că celulele sînt intim ataşate membranei limitante interne, care este foarte rezistentă. Ea este formată chiar din picioruşele centrale ale celulelor, confirmînd concepţia lui Jelinek şi Klika.

Nu există celule germinative în cuprinsul epiteliului neural, aşa cum a descris His, ci toate celulele se divid. La sfîrşitul intercinezei, celulele care se divid se îndreaptă spre stratul ependimar unde are loc mitoza.

Scanned with OKEN Scanner

Distrugînd stratul ependimar cu ajutorul unei substanțe necrozante, injectată intraependimar, activitatea mitotică se desfășoară în toată grosimea mantalei, îndeosebi în zona S (de sinteză a ARN). Deci, membrana limitantă internă are un rol major în localizarea mitozelor normale (B. Menkes).

După diviziune, celulele-fiice migrează membrana externă, oprindu-se la diferite nivele.

Există probabil mai multe generații succesive de celule care prezintă aceste mișcări pre- și postmitotice.

Celulele care migrează nu pierd legătura cu membrana limitantă internă.

Epiteliul tubului neural se diferențiază în neuroblaști, care vor deveni neuronii din constituția sistemului nervos central și în *spongioblaști*, care vor genera glia centrală. Unele *celule* din crestele neurale se vor diferenția pe două căi, dînd naștere, pe de o parte, neuronilor din ganglionii nervoși spinali și simpatici, pe de altă parte, gliei satelite a acestor neuroni și celulelor gliale Schwann.

Transformarea neuroblastului primitiv, celulă apolară, în neuron parcurge etape în care prin apariția prelungirilor, a corpilor Nissl și a neurofibrilelor se diferențiază neuronul. Neuronii, celule care au atins cel mai înalt grad de diferențiere, au pierdut capacitatea de a se divide. La naștere, sistemul nervos este format dintr-un număr de neuroni care va rămîne constant toată viața. Dacă unii neuroni se distrug, ei nu mai pot fi înlocuiți, dar unele funcții ale organului nervos pot fi îndeplinite de neuronii rămași care au aceeași structură și aceleași conexiuni.

O dată cu apariția neuronului apar și fibrele nervoase; inițial, toate fibrele sînt lipsite de teaca de mielină și de teaca Schwann. Prin apariția tecii Schwann, începe mielinizarea. Mielinizarea apare în vecinătatea corpului celular și se extinde treptat către capătul distal al fibrei nervoase.

Din celulele care înconjură lumina canalului ependimar, iau naștere *spongioblastele ependimare* polare. Acestea au o prelungire externă lungă spre țesutul mezenchimal din jurul tubului neural. Prelungirea externă devine mai scurtă pînă la dispariție și astfel apar celulele ependimare.

Spongioblastele din grosimea epiteliului neural, așezate la diferite nivele, care inițial au avut prelungiri centrale și periferice, își retractă prelungirile și devin *glioblaste migratoare*, care vor genera *astrocitele* și *oligocitele*. Această diferențiere are loc în urma desprinderilor lor din epiteliu și creierii legăturii cu țesutul mezenchimal perineural și cu vasele sanguine. Primele elemente desprinse sînt, după Hortega, astroblastele. Ulterior se desprind oligodendroblastele și iau contact cu prelungirile neuroblastelor.

Microglia are origine mezodermală, avînd ca sursă piamater și celulele adventițiale ale vaselor sanguine din piamater, care pătrund cu ea în organele nervoase.

Unele spongioblaste își păstrează forma inițială în apropierea canalului central, altele devin bipolare, pierzînd legătura cu canalul, sînt *spongioblastele*

Scanned with OKEN Scanner

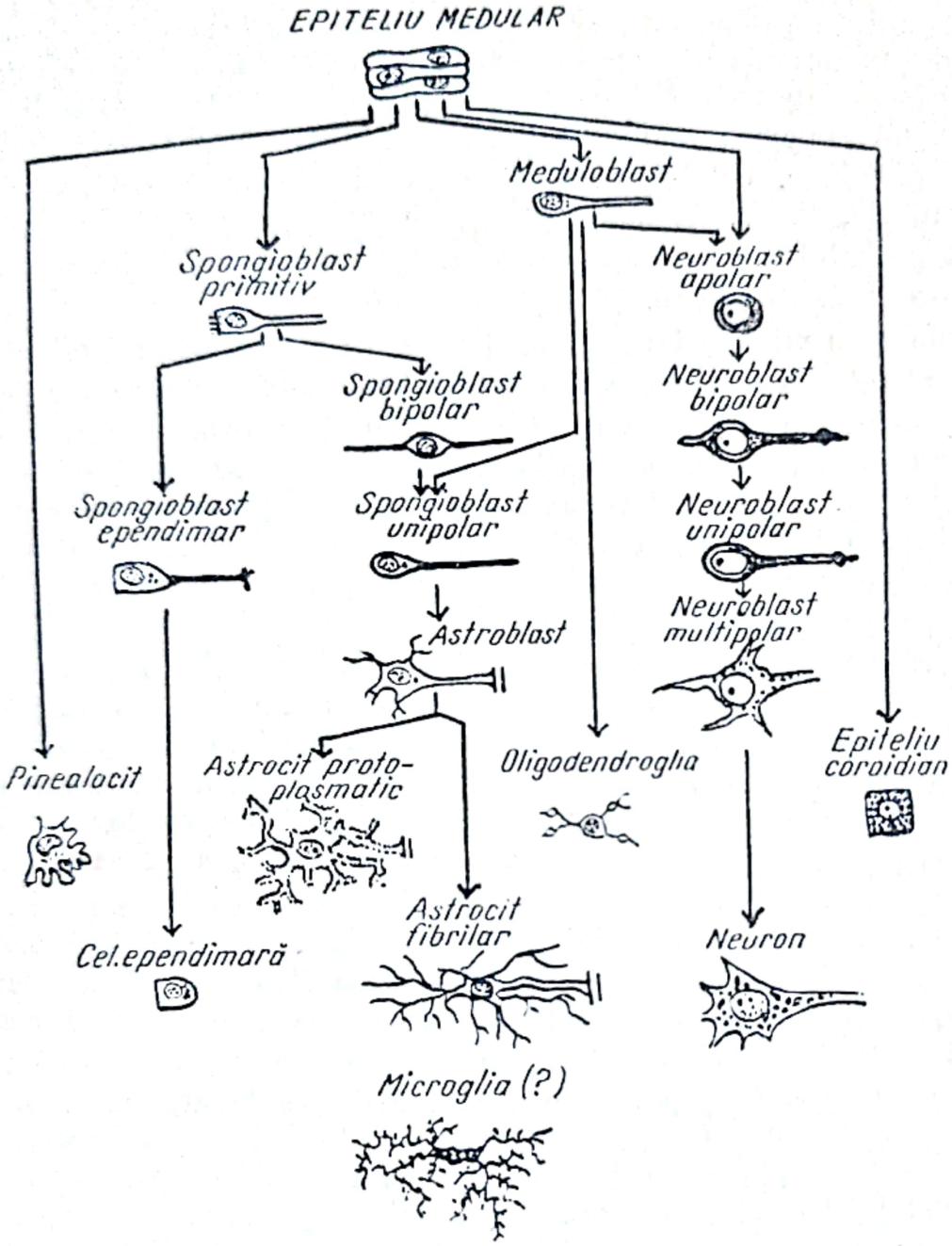


Fig. 168. Schema histogenezei celulelor nervoase şi gliale (după Copenhaver).

unipolare, apoi apar astroblastele, care iau contact cu vasele sanguine. Prin modificări ale ramificaţiilor care devin mai scurte şi mai numeroase apar astrocitele protoplasmatice; acestea, prin apariţia fibrilelor intraciloplasmatice vor deveni astrocite fibroase.

Toate aceste elemente pot fi generate de celule mai puţin diferenţiate, numite *meduloblaste* (fig. 168).

W. Vechsler (1967) a studiat modificările ultrastructurale parcurse de elementele gliale în timpul dezvoltării lor. El împarte această evoluţie în trei

Scanned with OKEN Scanner

stadii. În *stadiul I* nu se diferențiază neuroblaștii de spongioblaști; citoplasma lor conținînd numeroși ribozomi liberi, numeroase mitocondrii, dar un reticul endoplasmic și o zonă Golgi slab dezvoltată. Prelungirile, în schimb, au ribozomi puțini și un reticul endoplasmic tubular. Carioplasma este densă și nucleolii mari. În *stadiul II*, neuroblaștii diferă de glioblaști, care au citoplasma și nucleul mai dense la fluxul de electroni, ribozomi și reticul endoplasmic mai puțini. *Stadiul III* este stadiul de maturație: în citoplasma astroblastului toate organitele nespecifice sînt mai bogate, iar în prelungiri se evidențiază glicogen. Aceleași aspecte se observă și în oligoblaste, care au însă mitocondriile mai numeroase.

Spre deosebire de neuroni, nevroglia continuă să se dezvolte și postnatal.

Scanned with OKEN Scanner

BIBLIOGRAFIE

1. ADMS, C. *Neurohistochemistry.* Amsterdam London N. Y. Elsevier, 1965.
2. AREY, L. B. *Human histology. A textbook in cutline form.* 2nd ed. Philadelphia, London, W. B. Saunders Co., 1963.
3. BANGA, ILONA. *Structure and function of elastin and collagen.* Budapest Acad., Kiadó, 1966.
4. BARGMANN, W. *Histologie und microscopische Anatomie des Menschen.* Stuttgart, G. Thieme, 1964.
5. BEVELANDER, G. *Outline of histology.* 5 ed. Saint Louis, C.V. Mosby Co., 1963.
6. BEVELANDER, G. *Essentials of histology.* 5 ed. Saint Louis, C. V. Mosby Co., 1965.
7. BISCHOP, CH şi SURGENOR, D. M. *The red blood cell. A coprehensive treatise.* New York — London Acad. Press, 1964.
8. BLOOM, W. şi FAWCETT, DON W. *A textbook of histology.* 8 ed. Philadelphia — London, W. B. Saunders Co., 1964.
9. BOURNE, G. H. *The structure and function of muscle.* I-III, New York — London Acad. Press, 1960.
10. BOURNE, G. H. *Cytology and cell physiology.* 3. ed. New York — London, Acad. Press, 1964.
11. BOURNE, G. H. şi DANIELLI, J. E. *International review of cytology.* 20—21, New York — London, Acad. Press, 1967.
12. BRACHET, J. şi MIRSKI, A. *The cell.* I—IV, Acad. Press, New York — London, 1959.
13. BESSIS, MARCEL. *Traîté de cytologie sanguine.* Paris, Masson C-ie, 1954.
14. CAJAL, R. *Histologie du systhème nerveux de l'homme et des vertèbres.* 1—2, Madrid, Consejo Superior de Investigacines Scientificas Instituto Ramon Y Cajal, 1952, 1955.
15. CARVALHO, A. ş.a. *The specialized tisseues of the heart.* Proceed. Sym. specialized tissues of the heart, august 1960, Rio de Janeiro.
16. CAUSEY, G. *Electron microscopy. A textbook for students of medicine and biology.* Edinburgh — London E & S Livingstone Ltd., 1962.
17. CHEVREMONT, M. *Notions de cytologie et histologie.* 1—3, ed. Liège, Desoer, 1966.

Scanned with OKEN Scanner

18. COPENHAVER, W. M. *Bailey's textbook of histology.* 5 ed. Baltimore, William Wilkins Co. 1964.
19. CRUICKSCHANK, B. ş.a. *Human histology.* Edinburg - London Ltd., Livingstone, 1964.
20. DARLINGTON, C. D. *Cytology.* London J. A. Churchill Ltd., 1965.
21. DICULESCU, I. ş.a. *A histochemical analysis of dehydrogenase variety in the different types of muscular tisseus.* J. Histochem. Cytochem., 1964, 12, 145.
22. DICULESCU, I. ş.a. *On ATP-ase of intercalated disks.* Acta Histochemica, 18, 58, 1964.
23. DICULESCU, I, şi ONICESCU, D. *La démonstration histochimique des épimérases de l'acide uridindiphospho-D-glucuronique.* Histochimie, 5, 450, 1965.
24. DICULESCU, I. *Sur certains caractères métaboliques du tissu adipeux éclaircis par voie histochimique.* Ann. Histochim., 11, 99, 1966.
25. DICULESCU, I. *Données histoenzymologiques sur l'interrelation entre les mastocytes et le tissu adipeux.* C. R. Assoc. Anat., 138, 415, 1967.
26. DICULESCU, I. ş.a. *Histochemical variations of sulfatases and peptidases in the developping cardiac muscle.* Acta Histochemica, 69, 343, 1968.
27. DICULESCU, I. ş.a. *Histochemistry of the epimerases.* III. Uridine diphosphogalactose-4-epimerase. Histochemie, 14, 143, 1968.
28. DUBREUIL, G. şi CANIVENE, R. *Manuel théorique et pratique d'histologie,* I—II, Paris, Vigot Frères, 1967.
29. EGOROV, A. *Celulele sanguine* (manual pentru medici şi studenţi) (l. rusă). Moscova, M.Ed.G.I.Z. Gosud. Izd. Lit. Medit., 1951.
30. EMMERICH, R. şi PERLIK, E. *Gefasswand und Blutplasma.* Jena V.E.B.. Gustav Fischer, 1965.
31. FISCHMAN, A. P. *The myocardium its biochemistry and biophysics.* New York, Am. Heart Assoc., 1961.
32. FLEIS, Ch. H. ş a. *Calcified tissues. Springer Verlag-Berlin, Heidelberg,* New York, 1966.
33. GAR VEN, H. S. D. *A student's histology.* Edinburgh and London, 1965.
34. GILLISON, M. *A histology of the body tissues. With a consideration of their function.* 2 ed. Edinburgh — London, E & S. Livingstone Ltd., 1966.
35. GLEES, PAUL. *Neuroglia. Morphology and function.* Oxford, Blakwell Scientif. Publ., 1955.
36. GLEES, PAUL. *Morphologie et physiologie du systhème nerveux.* Paris, G. Doin C-ie, 1960.
37. GREEPROY, O. *Histology.* 2 ed. New York, McGraw-Hill Book Co., 1966.
38. GUNTHER, SCHUMANN. *Leitfaden der Morphologie des Knochenmarkes.* Leipzig, G. Thieme, 1950.
39. GRUNDMAN, E. *General cytology. An introduction to functional morphology of the cell.* E. Arnold (Publ.) Ltd., London, 1966.
40. HAM, A. W. şi SYDNEYL. *Histology.* London, Philadelphia, Pitman Medical Publ. Co., J. B. Lippincott Co., 4 ed, 1961, 5 ed. 1965.
41. HALL, A., DAVIV. *International review of connective tissue* research. 1—3, London — New York, Acad. Press, 1963—1964.
42. HARRISON, R. G. şi HILL, K. R. *Cardiovascular anatomy and pathology.* London — New York, Acad. Press, 1964.
43. JACKSON FILTON, S. ş.a. *Structure and function of connective and skeletal tissue.* London Butterworths, 1965.

Scanned with OKEN Scanner

44. KIRPICINIKOVA, E. S. şi LEVINSON, L. B. *Manual de histologie generală.* (l. rusă). Moscova, Gosud. Izd. „Sovetscaia Nauka", 1953.
45. KLIMA, J. *Cytologie. Eine Einführung Studierende der Naturwissenschaften und Medizin.* Stuttgart, Gustav Fischer, 1967.
46. KOREY, R. S. The biology of myelin. London Cassell, 1959.
47. KOWALSKI, F. şi NIEWIARONSCKI, S. *Biochemistry of blood plastelets.* London — New York, Warszawa, Acad. Press Polisch Scientific Publ., 1967.
48. KURTZ, STANLEY. *Elektron microscopic anatomy.* New York — London, Acad. Press, 1966.
49. LEESON, C. R. şi LEESON, Th. *Histology.* W. B. Saunders Co., Philadelphia, 1966.
50. MERCER, E. H. şi BIRBEK, M. S. C. *Electron microscopy.* 2 ed. Oxford, Blakwell, 1966.
51. MIHAILOV, V. P. *Vedenie v ţitologhii.* Izdatelstvo Mediţina, Leningradscoe otdelenie, 1968 (l. rusă).
52. NICULESCU, I. şi un grup de autori. *Histologia.* Ed. medicală, 1955.
53. ORBISON, L. şi DAVID, SMITH. *The peripheral boold vessels.* Williams-Wilkins Co., Baltimore, 1963.
54. PADAWER, J. ş.a. *Masc cell and basophils.* New York, Acad. Sciences, 1963.
55. PAUL, M. W. ş.a. *Muscle.* Oxford—London—Edinburgh—New York—Paris——Frankfurt, Sym. Publ. Division Pergamonn Press, 1965.
56. PICARD, V. D. ş.a. *Cahier aide-mémoire de traveaux pratiques d'histologie.* Paris. Masson et C-ie, 1964.
57. PILET, P. E. *La cellule. Structure et fonctions.* Paris, Masson C-ie, 1964.
58. POLICARD, A. şi BAUD, C. A. *Les structures inframicroscopiques normales et pathologiques des cellules et des tissus. Signification physiologique et pathologique.* Paris, Masson C-ie, 1958.
59. PORTER, V. K. BONNEVILLE, M. *Einführung in die Feinstruktur von Zellen und Geweben.* Berlin—Heidelberg—New York, Springer-Verlag, 1965.
60. PROKOP, O. şi UHLENBRUCH, G. *Lehrbuch der menschlichen Blut- und Serumgruppen.* Leipzig V. E. B. G. Thieme, 1963.
61. RENOLD, A. E. şi CAHIL, F. G. *Adipose tissue.* Washington Am. Physiological Society, 1965.
62. RÎMNICEANU, C. *Histologie.* Bucureşti, Ed. didactică şi pedagogică, 1965.
63. ROTRAUD, GIESEKING. *Mesenchymale Gewebe und ihre Reactionsformen im elektronenoptischen Bild.* Stuttgart, Gustav Fischer, 1966.
64. ROBERTIS, E. D. P. şi CARREA, R. *Biology of neurologia.* Ansterdam — London — New York, Elsevier Publ. Co., 1965.
65. ROOIN, D. B. *Enzyme cytology.* London — New York, Acad. Press, 1967.
66. SCHREIBER, D. *Einführung in die Blutmorphologie.* (Introduction of the morphology of blood). Leipzig V. E. B. G. Thieme, 1960.
67. SCHADE, J. P. şi FORD DONALD, H. *Basic neurology. An introduction to the structure and function of the nervous system.* Amsterdam, London — New York, Elsevier, 1965.
68. SOLERE, MAURICE. *Introduction à l'étude morphologique de cerveau humain et des organes des sens.* Paris, l'Expansion Scientifique Française, 1967.
69. STOHR, Ph. *Lehrbuch der Histologie und der mikroscopischen Anatomie des Menschen.* Jena V. E. B. Gustav Fischer Verlag, 1955, 1963.
70. STEOPOE, I. *Histologie, Embriologie.* Bucureşti, Ed. didactică şi pedagogică, 1967.
71. TRUMBORE, ROGER. *The cell. Chemistry and function.* S. Louis, C. V. Mosby Co., 1966.

Scanned with OKEN Scanner

72. SYDNEY S., BREES. *Electron microscopy.* I—II, Acad. Press, New York — London, 1962.
73. VERNE, J. *Précis d'histologie. La cellule, les tissus, les organes.* Paris, Masson C-ie; 1963
74. VOSS, H. *Grundriss der normalen Histologie und der mikroscopischen Anatomie.* V.E.B.G. Thieme, Leipzig, 1963
75. VAXTIN, B. ş.a. *Rukovodstvo po ţitologhii.* Izd. Nauka, Moscova — Leningrad, 1966.
76. VORONIN, V. V. ş.a. *Fibra nervoasă mielinică. Structura şi modificările ei sub acţiunea diferiţilor factori* (l. rusă). Tbilisi, Izd. Akad. Nauk. Gruminskai SSSR, 1960.
77. WAELSCH, H. *Ultrastructure and cellular chemistry of neural tissue.* London — — Toronto — Melbourne — Sydney — Wellington, Cassell Co., Ltd., 1965
78. ZAVARZIN, A. A. şi SCELKUNOV, C. I. *Rukovodstvo po ghistologhii.* Gosud. Izd. Med. Lit. Medgiz. Leningradscoe Otdelenie, 1954.

Scanned with OKEN Scanner

Nr. colilor de tipar: 22.50
Nr. planşelor: 11

Intreprinderea poligrafică „Crişana“
Str. Moscovei nr. 5 — Oradea
Republica Socialistă România
Comanda nr. 186/2728

Scanned with OKEN Scanner